



**UNIVERSITÄT
BAYREUTH**

Fakultät für Biologie, Chemie und
Geowissenschaften

Naturstoffe aus Heilpflanzen und marinen Organismen

Dissertation

vorgelegt von
Dipl.-Chem. Daniela Grote
aus Ebersberg

2006

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Januar 2003 bis September 2006 am Lehrstuhl für Organische Chemie der Universität Bayreuth unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. K. Seifert angefertigt.

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften der Universität Bayreuth zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften genehmigte Dissertation.

Tag der Einreichung:

6. Dezember 2006

Tag des wissenschaftlichen Kolloquiums:

15. März 2007

Prüfungsausschuss:

Prof. Dr. K. Dettner

Vorsitzender

Prof. Dr. K. Seifert

1. Gutachter

Prof. Dr. R. Schobert

2. Gutachter

Prof. Dr. A. Müller

In love for five persons who mean a lot for me;
especially my mom and my dad.

"Wahrscheinlich darf man ganz allgemein sagen, dass sich in der Geschichte des menschlichen Denkens oft die fruchtbarsten Entwicklungen dort ergeben haben, wo zwei verschiedene Arten des Denkens sich getroffen haben. Diese verschiedene Arten des Denkens mögen ihre Wurzeln in verschiedenen Gebieten der menschlichen Kultur haben oder in verschiedenen Zeiten, in verschiedenen kulturellen Umgebungen oder verschiedenen religiösen Traditionen. Wenn sie sich nur wirklich treffen, d.h., wenn sie wenigstens so weit zueinander in Beziehung treten, dass echte Wechselwirkung stattfindet, dann kann man darauf hoffen, dass neue interessante Entwicklungen folgen."

Werner Heisenberg

Bedenkt, dass alle Geschöpfe
dieser Welt heilig sind und darum
entsprechend behandelt werden
wollen.

Hehaka Sapa (Sioux)

Dank den Korallen und dem Schwamm

1 Einleitung	1
1.1 Untersuchte Naturstoffe aus Pflanzen.....	4
1.1.1 Flavonoide	4
1.1.2 Pregnan-Derivate	6
1.1.3 Triterpensaponine.....	7
1.2 Marine Organismen und ihre Naturstoffe	10
1.2.1 Struktur und Eigenschaften von Korallen	11
1.2.2 Struktur und Eigenschaften von Schwämmen.....	16
1.2.3 Sterole	17
1.2.4 Sesquiterpene	24
1.2.5 Diterpene	27
1.3 Verwendete Methoden	32
1.3.1 Kernspinresonanz (NMR)	32
1.3.2 Massenspektrometrie	33
1.3.3 Bestimmung der Reihenzugehörigkeit der Zucker.....	35
2 Isolierung und Strukturbestimmung.....	36
2.1 Untersuchung von Pflanzen	36
2.1.1 Zwei Triterpensaponine und Kämpferol 3-O-robinobiosid aus <i>Zizyphus</i> <i>spina-christi</i>	36
2.1.2 Zwei Pregnan-Derivate aus <i>Solenostemma argel</i>	48
2.2 Untersuchung von marinen Organismen.....	53
2.2.1 Sterole und Palmitinsäure aus der Alge <i>Enteromorpha flexuosa</i>	54
2.2.2 Sterole aus dem Schwamm <i>Desmacidon tubular</i>	57
2.2.3 Zwei Sterole aus der Koralle <i>Palythoa</i> sp.	59
2.2.4 Zwei Sterole aus der Koralle <i>Sarcophyton tenuispiculatum</i>	64
2.2.5 Das Cembran-Diterpen (–)-Nephthenol, Sterole und Ölsäure aus der Koralle <i>Nephthea</i> sp.	67
2.2.6 Das Furanocembranoid (–)-11 β ,12 β -Epoxy pukalid, das Sesquiterpen (–)-Bicyclogermacren und Sterole aus der Koralle <i>Litophyton arboreum</i> . 72	

2.2.7 Ein Cembran-Diterpen und Sterole aus der Koralle <i>Sarcophyton trocheliophorum</i>	77
2.2.8 Zwei Cembran-Diterpene und 24 ξ -Methylcholesterol aus der Koralle <i>Sarcophyton glaucum</i>	82
2.2.9 Vier Cembran-Diterpene aus der Koralle <i>Sinularia polydactyla</i>	86
2.2.10 Vier Cembran-Diterpene und ein Sesquiterpen aus der Koralle <i>Sarcophyton</i> sp.	93
2.2.11 Fünf Furanocembranoide, ein Furanosesquiterpen und Sterole aus der Koralle <i>Sinularia asterolobata</i>	100
2.2.12 Sechs Capnellene, ein Präcapnellen und Sterole aus der Koralle <i>Dendronephthya rubeola</i>	110
3 Pharmakologische Testungen	126
4 Experimenteller Teil	132
4.1 Allgemeines	132
4.2 <i>Zizyphus spina-christi</i>	136
4.2.1 Extraktion und Isolierung der Verbindungen 1–3	136
4.2.2 Bestimmung der Reihenzugehörigkeit der Monosaccharide	136
4.2.3 Synthese von 6-Deoxy-L-talopyranosid	137
4.3 Extraktion und Isolierung der Verbindungen 6–40 aus marinen Organismen	140
4.3.1 Alge <i>Enteromorpha flexuosa</i>	140
4.3.2 Schwamm <i>Desmacidon tubular</i>	140
4.3.3 Koralle <i>Palythoa</i> sp.	140
4.3.4 Koralle <i>Sarcophyton tenuispiculatum</i>	141
4.3.5 Koralle <i>Nephthea</i> sp.	141
4.3.6 Koralle <i>Litophyton arboreum</i>	141
4.3.7 Koralle <i>Sarcophyton trocheliophorum</i>	142
4.3.8 Koralle <i>Sarcophyton glaucum</i>	142
4.3.9 Koralle <i>Sinularia polydactyla</i>	142
4.3.10 Koralle <i>Sarcophyton</i> sp.	143
4.3.11 Koralle <i>Sinularia asterolobata</i>	143
4.3.12 Koralle <i>Dendronephthya rubeola</i>	144

4.4 Spektroskopische Daten der isolierten Verbindungen.....	145
5 Zusammenfassung	152
6 Summary	157
7 Anhang	162
7.1 Abbildungsverzeichnis	162
7.2 Tabellenverzeichnis	166
8 Literaturverzeichnis	169

Abkürzungsverzeichnis

A2780	Zelllinie des humanen Adenokarzinoms
A549	Zelllinie des humanen Lungenkrebses
Ac	Acetyl-
abs.	absolutiert
a. m. u.	atomare Masseneinheiten (atomic mass units)
Ara	Arabinose
ATP	Adenosin-Triphosphat
ber.	berechnet
BuOH	Butanol
CC ₅₀	Konzentration bei 50%iger Zellabtötung
COSY	Correlated Spectroscopy
DC	Dünnschichtchromatografie
δ	chemische Verschiebung (in ppm)
d	Dublett
dd	dupliziertes Dublett
ddd	Dublett von Dublett von Dublett
dt	dupliziertes Triplett
EC ₅₀	effektive Konzentration, die bei 50% einer Versuchspopulation eine definierte Wirkung auslöst
ED ₅₀	effektive Dosis für 50% Wirkung
EI-MS	Electron Impact-Mass Spectroscopy
ESI	Electrospray Ionisation
EtOAc	Essigsäureethylester
FAB	Fast Atom Bombardement
FPP	Farnesylpyrophosphat
GC	Gaschromatografie
GC-MS	Gaschromatografie-Massenspektroskopie
Gal	Galactose
GI ₅₀	Konzentration bei 50%iger Wachstumshemmung
Glc	Glucose
h	Stunde(n)

HeLa	Zelllinie des humanen Cervix Karzinoms
Hepa2	Zelllinie des humanen Leberkrebses
Hepa59T/VGH	Zelllinie des humanen Leberkrebses
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HL-60	Zelllinie der humanen promyelogenen Leukämie
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMO2	Zelllinie des humanen Magenadenokarzinoms
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
HR-ESI-MS	High Resolution-Electrospray Ionisation-Mass Spectrometry
HT-29	Zelllinie des humanen Dickdarmkrebses
HTLV-I	humane T-Zellen Leukämie Virus Typ I
Hz	Hertz
IC ₅₀	Konzentration, bei der eine 50% Hemmung stattfindet (Inhibitory Concentration)
J	Kopplungskonstante
K-562	Zelllinie der humanen Leukämie
KB	Zelllinie des humanen Oberhautkrebses im Mund
L-929	Mäusefibroblastenzelllinie
LC	Liquid Chromatography
LD ₅₀	Dosis, bei der 50% der Versuchstiere verenden
LSI-MS	Liquid Secondary Ion-Mass Spectrometry
m/z	Verhältnis Masse/Elementarladung
M ⁺	Molekülion
m	Multiplett
M14	humane amelanotische Melanom Zelllinie
MCF7	Zelllinie des humanen Mammakarzinoms
Me	Methyl
Mel28	humane Melanom Zelllinie
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
MPLC	Medium Pressure Liquid Chromatography
MS	Massenspektroskopie
MSTFA	N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoracetamid

NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Kernresonanzspektroskopie)
2D-NMR	zweidimensionale NMR
NOE	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
P-388	Zelllinie des murinen Lymphknotenkrebses
p	präparativ
p. a.	pro analysis
PBL	periphere Blutlymphozyten
PLA ₂	Phospholipase A ₂
ppm	parts per million
Rha	Rhamnose
R _i	Retentionsindex
ROESY	Rotating Frame NOESY
RP	Reversed Phase
R _t	Retentionszeit
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
brs	breites Singulett
SC	Säulenchromatografie
Si 60	Kieselgel (Korngröße 40-63 µm)
t	Triplett
Tal	Talose
TBT	Tributylzinnhydrid
TMS	Trimethylsilyl
TMSOH	Trimethylsilanol
zpE	zytopathischer Effekt

1 Einleitung

Seit jeher ist man auf der Suche nach neuen bioaktiven Naturstoffen, die eine wichtige Quelle für Arzneimittel darstellen. Heilpflanzen wurden früher bereits gegen Krankheiten eingesetzt. Dies belegt die Ausgrabung des 60.000 Jahr alten Neandertalergrabs in Shanindar (Irak), in dem Überreste von Heilkräutern gefunden wurden [1] sowie die 40 Tontafeln Mesopotamiens von 2.000 v. Chr.. Auf diesen Tontafeln sind tausende Einträge über Krankheitsdiagnosen und die angewendeten Arzneipflanzen dokumentiert, wie z. B. Schlafmohn (*Papaver somniferum*), aus dem heute noch das starke Schmerzmittel Morphin, gewonnen wird. Die Archive der assyrischen Hauptstadt Assur und die Bibliothek des Königs Assurbanipal (669-627 v. Chr.) in Ninive besitzen ebenfalls Tontafeln, die über Krankheiten, deren Symptome, die verwendeten Heilpflanzen und ihre Anwendung berichten. Des Weiteren ist bekannt, dass in der jahrtausendealten Tradition der tibetischen, der chinesischen und der indisch-ayurvedischen Heilkunde die Therapie mit Pflanzenheilmitteln von größter Bedeutung ist [2]. Die Verabreichung der Heilpflanzen bei verschiedenen Krankheiten findet man in vielen Kulturkreisen bis hin in die Gegenwart, wie z. B. Pflanzen aus den Familien der Rhamnaceae und Asclepiadaceae in der arabischen Volksmedizin [3]. Interessant ist, dass nicht nur Menschen, sondern auch Schimpansen und andere Primaten mit dem unbewussten Gebrauch von Arzneipflanzen vertraut sind [2].

Neben Pflanzen sind Pilze und Mikroorganismen ebenfalls bekannte terrestrische Quellen für bioaktive Sekundärmetabolite. Einer der bekanntesten Wirkstoffe aus Pilzen ist das Penicillin, das als Antibiotikum seinen Einsatz findet. Allerdings stellten Ärzte und Apotheker immer wieder fest, dass die Heilwirkung von vielen Arzneimitteln auf medizinische Grenzen trifft. Selbst zum Anfang des neuen Jahrhunderts besitzen Medikamente zur Behandlung schwerer Krankheiten wie Krebs und AIDS eine begrenzte Wirksamkeit bei teilweise hoher Unverträglichkeit und starken Nebenwirkungen. Außerdem treten vermehrt neue Krankheitsbilder wie SARS, Allergien und Autoimmunerkrankungen auf. Hinzu kommt, dass viele Krankheitserreger eine zunehmende Resistenz gegenüber herkömmlichen Pharmaka entwickeln und diese unbrauchbar werden [4].

Dies ist der Grund, warum die Forschung in den letzten Jahren die Suche nach pharmakologisch wirksamen Naturstoffen auf marine Organismen erweiterte. Etwa

70% der Erdoberfläche sind mit Wasser bedeckt und bieten vielen verschiedenen, noch nicht untersuchten Arten von Lebewesen ein zu Hause. Diese Lebensformen existieren in einem geschlossenen Ökosystem mit hohem Salzgehalt, höherem Druck und relativ konstanter Temperatur [5] und unterscheiden sich dadurch von den terrestrischen Lebensformen, welche durch die sie umgebende Sauerstoffatmosphäre bestimmt sind. Dies bedeutet, dass sich die Lebensformen auf dem Land und im Wasser an die jeweilige Umgebung angepasst haben und verschiedene Entwicklungsstufen durchlaufen. Korallen und Schwämme leben beispielsweise häufig in komplexen Symbiosen. Zur Kommunikation und Verteidigung verwenden terrestrische Organismen oft unpolare, flüchtige Verbindungen. Bei marinen Lebensformen werden erst seit kürzerer Zeit diese Signalstoffe untersucht [6]. Bei der Erforschung der marinen Organismen wurden sowohl unpolare, als auch viele polare Sekundärmetabolite mit ungewöhnlichen Strukturen isoliert, die sich von denen aus dem terrestrischen Bereich deutlich unterscheiden.

Früher diente das Meer vielen Menschen als Hauptnahrungsquelle. Allerdings erkannte man im asiatischen Raum bereits frühzeitig, dass aus marinen Organismen Heilmittel gewonnen werden können [7]. In Süd-China werden Extrakte aus Rindenkorallen (*Gorgonaria*) in der Volksmedizin gegen Entzündungen und Schmerzen eingesetzt [8]. Ebenso ist bekannt, dass Seerosen-Drogen verdauungsfördernd sind und diuretische Wirkung haben [9]. Dass marine Invertebraten erst in den letzten Jahren untersucht werden konnten, ist vor allem auf die Weiterentwicklung der Tauchtechnik zurückzuführen. Außerdem sind die analytischen Methoden um einiges empfindlicher geworden, wodurch man bereits geringe Substanzmengen, die man aus marinen Organismen erhält, sicher charakterisieren kann. Den Beginn der marinen Naturstoffforschung leiteten Bergmann und Feeney in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts ein. Sie isolierten die beiden Arabinosyl-Nucleoside Spongouridin und Spongothymidin aus dem Schwamm *Cryptotethia crypta* (Elliot Key, Florida) [10]. Beide Naturstoffe enthalten statt der üblichen Ribose oder Deoxyribose den Zucker Arabinose und die Pyrimidinbasen Uracil oder Thymin. Diese Nucleoside dienten als Leitstruktur zur Entwicklung des Virusstatikums Arabinofuranosyladenin (ara-A), welches die Vermehrung von Herpesviren hemmt. Es kam in den siebziger Jahren auf den Markt und stellt heute noch eines der wenigen therapeutisch eingesetzten antiviralen Präparate marinen Ursprungs dar [11].

Im April 2006 wurde in der Schweiz das Medikament Prialt® zugelassen. Sein Inhaltsstoff Ziconotid ist ein Peptid aus 25 Aminosäuren, das ein synthetisches Analogon eines isolierten Peptides aus dem Gift der marinen Kegelschnecke *Conus magnus* ist [12]. Die Kegelschnecke erlegt mit diesem Nervengift ihre Beute [13]. Prialt® ist ein starkes Schmerzmittel, das zur Behandlung von Patienten mit starken, chronischen Schmerzen, die auf Morphinum nicht mehr ansprechen oder es nicht vertragen, verwendet wird. Der Vorteil dieses Medikamentes ist, dass es wirksamer ist als Morphinum aber nicht süchtig macht. Allerdings muss es ins Rückenmark gespritzt werden [14, 15].

Der makrocyclische Naturstoff Bryostatin 1, der zum ersten Mal aus dem Moostierchen *Bugula neritina* (Golf von Mexico) isoliert wurde [16], befindet sich mittlerweile als viel versprechendes Krebstherapeutikum in Phase II der klinischen Tests zur Behandlung von Melanomen, chronischer Lymphknotenleukämie, Non-Hodgkins-Lymphome und Lungenkrebs [12].

Dies zeigt sehr deutlich, dass es sinnvoll ist neben den aktiven Naturstoffen aus terrestrischen nun auch verstärkt pharmakologisch wirksame Sekundärmetabolite aus marinen Organismen zu suchen.

Die Aufgabe dieser Arbeit bestand darin, im Wesentlichen mithilfe der NMR-Spektroskopie Strukturen von Naturstoffen zu bestimmen, die aus den ägyptischen Heilpflanzen *Zizyphus spina-christi* und *Solenostemma argel* (Delile) Hayne von A. El Hagrassy und Dr. K. Shaker isoliert wurden. Außerdem sollten bioaktive Naturstoffe aus den Korallen *Dendronephthya rubeola*, *Sinularia asterolobata*, *Litophyton arboreum*, *Sarcophyton tenuispiculatum* und *Palythoa* sp. und dem Schwamm *Desmacidon tubular* isoliert werden. Diese und die von Dr. K. Shaker und Dr. H. Soliman aus den Korallen *Nephthea* sp., *Sarcophyton trocheliophorum*, *Sarcophyton* sp., *Sarcophyton glaucum* und *Sinularia polydactyla* und der Alge *Enteromorpha flexuosa* (Wulfen) J. Agardh erhaltenen Naturstoffe sollten ebenfalls mittels spektroskopischer Methoden charakterisiert werden.

Ausgewählte Verbindungen sollten auf pharmakologische Aktivitäten am Hans-Knöll-Institut in Jena getestet werden.

1.1 Untersuchte Naturstoffe aus Pflanzen

1.1.1 Flavonoide

Flavonoide zählen zu den wichtigsten Sekundärmetaboliten des Pflanzenreiches und weisen eine große Strukturvielfalt auf. Sie gehören zu einer der größten Klassen der natürlich vorkommenden Phenolverbindungen und leiten sich meistens von 2-Phenylchroman ab [17]. In der Biosynthese der Flavonoide (Abb. 1) werden die beiden aromatischen Ringe auf getrennten Wegen hergestellt. Ring C stammt von Phenylalanin ab, welches durch die Phenylalanin-Ammoniak-Lyase (PAL) katalytisch in (*E*)-Zimtsäure umgewandelt wird. Diese wird zu p-Cumarsäure hydroxyliert und als p-Cumaroyl-Coenzym A mit drei Malonyl-Coenzym A Molekülen, die den Ring A bilden, katalytisch zu Chalkon kondensiert. Ring B wird durch die Chalkon-Flavanon-Isomerase geschlossen und es entsteht das Flavanon, aus dem durch unterschiedliche Oxidationsreaktionen die anderen Flavanoidklassen gebildet werden. Durch Hydroxylierung und anschließende Dehydrierung entsteht Kämpferol, das neben Quercitin zu den bekanntesten Flavonolen zählt. In der Pflanze kommen die Flavonoide meistens als Glykoside vor. Deswegen unterscheiden sie sich nicht nur in der Art des Aglycon, sondern auch in der Position und Anzahl der Zuckerreste [17, 18].

Flavonoide kommen immer mehr in der Medizin zum Einsatz, da sie ein umfangreiches Wirkungsspektrum besitzen. Sie weisen antiallergische [19], spasmolytische, antihämorrhagische, koronardilatierende und diuretische Effekte auf. Außerdem dienen sie nicht nur den Pflanzen als Abwehrstoff gegen Pilze, Bakterien, Insekten und Viren, sondern zeigen auch eine antivirale Aktivität beispielsweise gegen den humanen Cytomegalovirus, der zur Familie der Herpesviren gehört [20]. Viele Flavonoide sind Antioxidantien [21]. Deswegen ist der Verzehr von flavonoidhaltigen Lebensmitteln (Obst, Gemüse) wichtig, da dadurch das Krebsrisiko und die Erkrankung der Herzkranzgefäße vermindert werden kann. Bekannt sind auch die entzündungshemmenden Eigenschaften von Flavonen [22], sowie die Tatsache, dass sie Enzyminhibitoren sind [23].

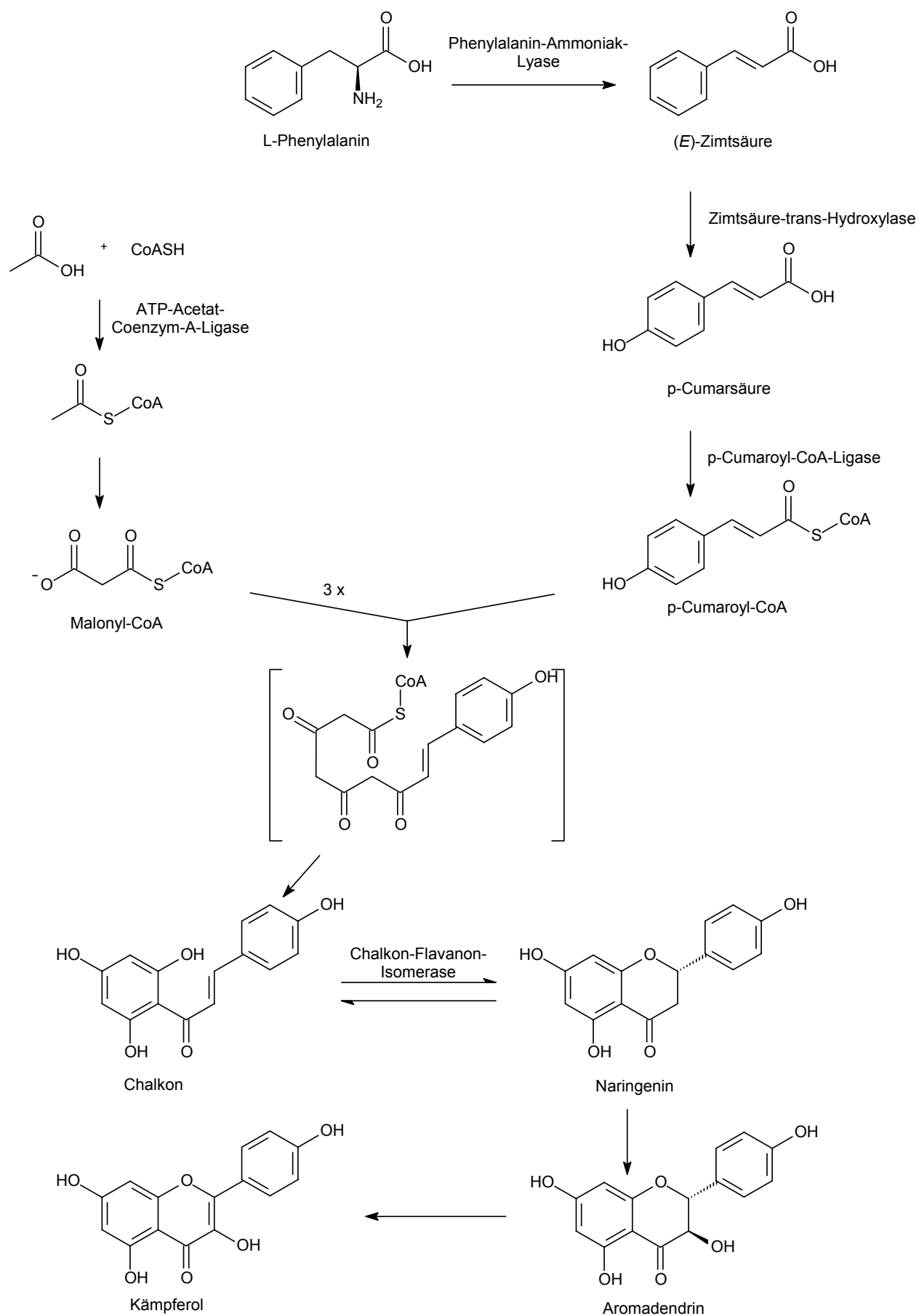


Abb. 1: Biosynthese von Kämpferol [17,18]

Kämpferol, Quercetin und Isorhamnetin hemmen z. B. *in vitro* die katalytische Aktivität des humanen Cytochrom-P450-Enzyms CYP1B1. Dieses Enzym katalysiert sowohl die Bildung des prokarzinogenen Dihydrodiols einiger Kohlenwasserstoffverbindungen, als auch die Oxidation zum Karzinogen Dihydrodiolperoxid [24]. Des Weiteren zeigt Quercetin eine antiproliferative Wirkung gegen humane Liposarkom Tumore [25]. Dies sind Gründe, warum Flavonoide in der Krebsforschung an Bedeutung gewinnen.

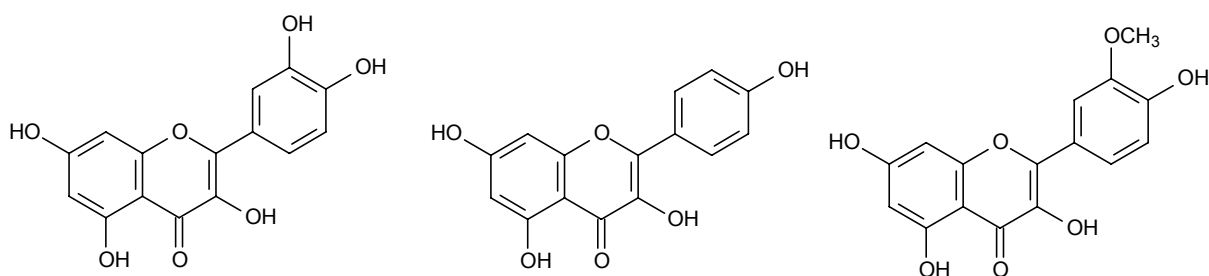


Abb. 2: Struktur von Quercetin, Kämpferol und Isorhamnetin

1.1.2 Pregnan-Derivate

Pregnan-Derivate, die in der Natur häufig vorkommen, besitzen das C_{21} -Kohlenstoff-Gerüst des 5α -Pregnans. Biogenetisch leiten sie sich vom Cholesterol durch oxidativen Seitenketten-Abbau ab [26].

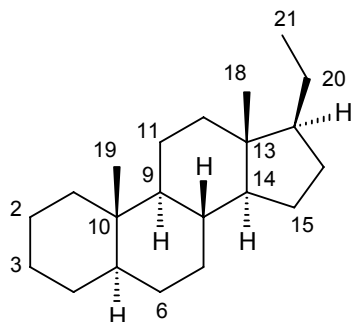


Abb. 3: Das C_{21} -Kohlenstoff-Gerüst des 5α -Pregnans [26]

Zu den bekanntesten Vertretern der Pregnan-Derivate gehören einerseits die Gestagene wie Progesteron [27], das im Gelbkörper und in der Plazenta während der Schwangerschaft gebildet wird, andererseits die Nebennierenrindhormone (Corticosteroide) wie Aldosteron. Aldosteron reguliert als wirksamstes Mineralcorticoid das Elektrolyt-Gleichgewicht im Körper. Eine wichtige Rolle spielt

dabei die Natriumionen-Retention und Kaliumionen-Ausschüttung. Des Weiteren wird Aldosteron in der Nebennierenrinde gebildet, wenn zu wenig Flüssigkeit im Körper ist. Dies bewirkt, dass die Nieren keine Flüssigkeit ausscheiden und somit kann der Wasserhaushalt im Körper gesteuert werden [28]. Ebenfalls zu den Corticoiden zählt Cortison, das starke entzündungshemmende Eigenschaften aufweist. Deswegen findet es als Therapeutikum bei vielen Krankheiten wie beispielsweise Rheuma, Arthritis, Hautkrankheiten und Entzündungen Anwendung [29]. Außerdem zeigen Pregnan-Derivate, die aus Pflanzen isoliert wurden, bei verschiedenen Krebsarten kanzerostatische Wirkung und Hemmung des Zellwachstums [30-32]. 11α -O-2-Methylbutyryl- 12β -O-benzoyltenacigenin B wirkt beispielsweise cytotoxisch gegen die humane Krebszelllinie KB (Oberhautkrebs im Mund) ($ED_{50} = 2.5 \mu\text{g/ml}$) [30].

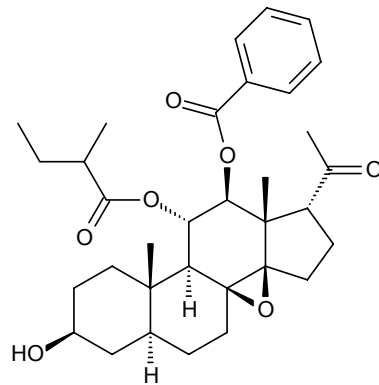
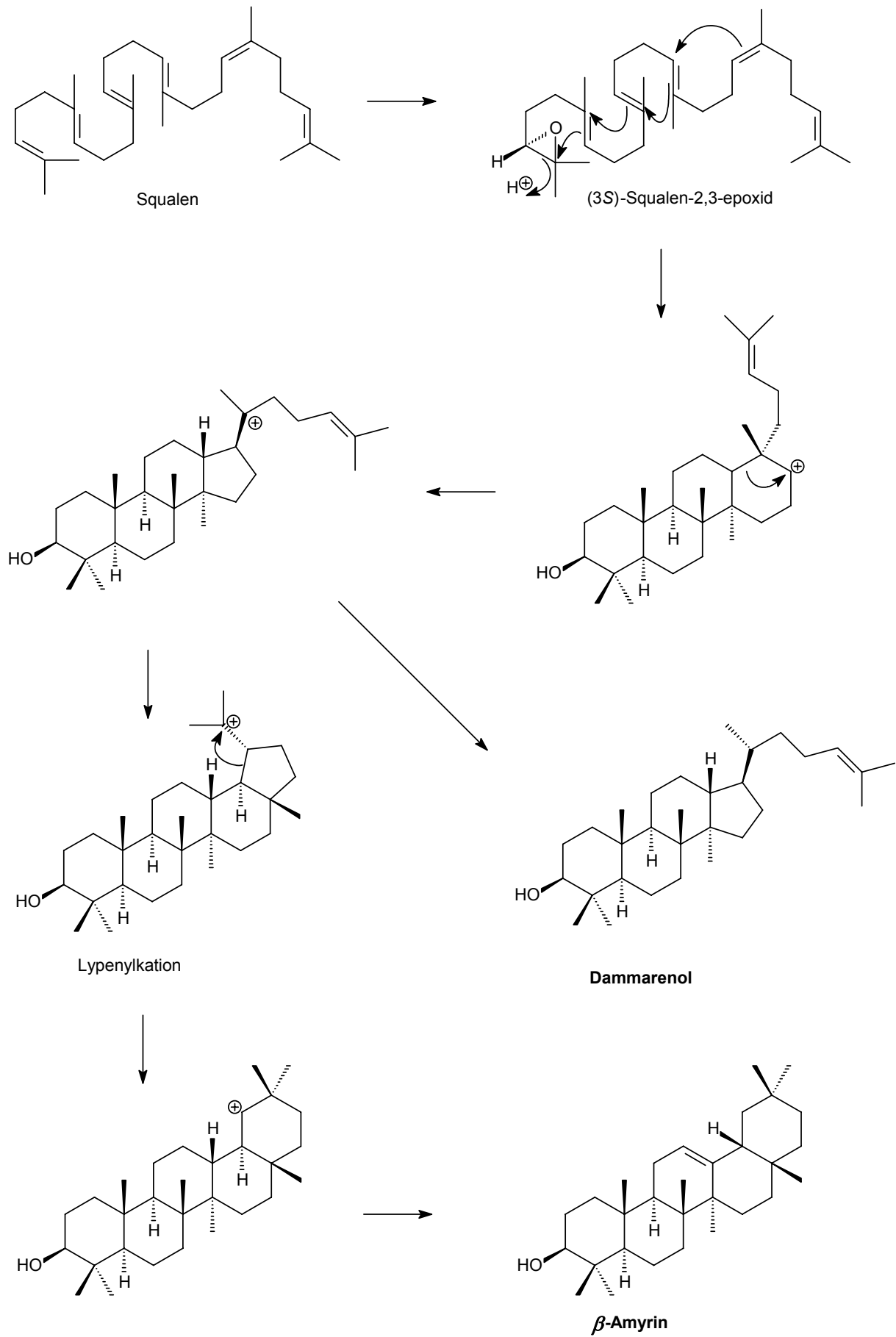


Abb. 4: Struktur des cytotoxischen Pregnans 11α -O-2-Methylbutyryl- 12β -O-benzoyltenacigenin B [30]

1.1.3 Triterpensaponine

Triterpensaponine sind als Pflanzeninhaltsstoffe sehr verbreitet. Sie setzen sich aus einem Triterpen-Aglycon – dem Sapogenin – und einer, zwei, selten auch drei daran glycosidisch gebundenen Zuckerketten zusammen. Das Aglycon weist ein pentacyclisches (α -, β -Amyrin) oder seltener tetracyclisches (Dammaran) Triterpensystem auf. Biogenetisch leitet sich das Triterpen-Aglycon vom Squalen ab [33].


Abb. 5: Biogenese von Dammarenol und β -Amyrin [33]

Der Name „Saponin“ kommt vom lateinischen Wort *sapo* = Seife, da sie einen seifenähnlichen Schaum in wässrigen Lösungen bilden. Der Grund dafür ist, dass der hydrophile Saccharidteil und das lipophile Sapogenin eine Amphiphilie bewirken, die die Oberflächenspannung herabsetzt und somit schaumbildende Eigenschaften aufweisen [34].

In der Volksmedizin werden saponinhaltige Pflanzen seit altersher gegen Rheuma, Gicht, Husten und Syphilis eingesetzt [35-36]. Antispasmodisch bei Keuchhusten wirkt der Extrakt aus Efeublättern, dessen Wirkung auf das Saponin Hederin zurückzuführen ist [37]. Des Weiteren brüht man aus Saponindrogen Tees, die harntreibend wirken und bei Nieren-, Blasen- und Stoffwechselerkrankungen angewendet werden [38]. Ginsengextrakte, deren therapeutische Wirkung zum größten Teil Triterpensaponinen zugeschrieben wird, finden in vielen Kulturen Verwendung. Aus den zerkleinerten, getrockneten Ginseng-Wurzeln werden beispielsweise Teeaufgüsse gemacht, die bei Müdigkeit und Schwäche stärken und außerdem die körperliche Leistungs- sowie die Konzentrationsfähigkeit steigern [39]. Ginsengextrakte zeigen *in vivo* Wachstumshemmung verschiedener Krebsarten. Ginsengoside aus Ginsengwurzeln hemmen deutlich das Wachstum von Melanomzellen [40].

Das in *Bupleurum falcatum* L. vorkommende Saikosaponin D wird in der traditionellen chinesischen Medizin zur Behandlung von Leberkrankheiten eingesetzt. Die antihepatotoxische Wirkung der Saikosaponine führt vermutlich zu einer Abnahme der mikrosomalen Enzymaktivität und Hemmung der Lipidperoxidation [230]. Neben seiner Cytotoxizität gegen humane Leberkrebszellenlinien [41], weist Saikosaponin D antiproliferative Wirkung gegen humanen Lungenkrebs auf [42]. Des Weiteren wirkt es entzündungshemmend [230].

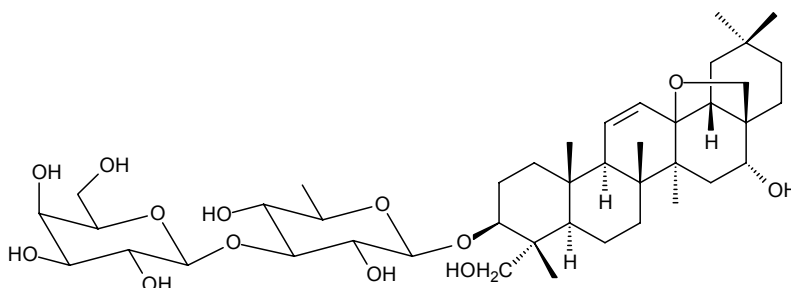


Abb. 6: Struktur von Saikosaponin D [231]

Aufgrund der ausgeprägten Affinität zu Cholesterol werden Saponine auch therapeutisch zur Senkung des Cholesterolspiegels verwendet. Des Weiteren haben Triterpensaponine hämolytische, antivirale, fungizide, schmerzlindernde, aquareitische, expektorierende und resorptionsbeeinflussende Eigenschaften, die auf ihr breites Wirkungsspektrum hindeuten [43].

Die Adjuvans-Wirkung der Saponine in sogenannten *immune-stimulating complexes* (ISCOM) weckt in der Medizin ein besonderes Interesse. Werden spezifische Antigene – meistens Viren – in Kombination mit Saponinen, Cholesterol und Phospholipiden verabreicht, kommt es zu einer stärkeren Immunantwort gegen das Antigen als ohne Triterpensaponine [44-45]. Somit braucht man nur noch eine geringe Dosis des Antigens, wodurch auftretende Nebenwirkungen auf ein Minimum reduziert werden können [35]. Auf diesem Weg hofft man ISCOM-Impfstoffe z. B. gegen Grippe-, Herpes- und HI-Viren zu bekommen. Eine antigenspezifische Immunantwort durch eine verstärkende saponinvermittelte Adjuvanswirkung wurde bereits bei einem experimentellen HIV-1 Impfstoff festgestellt [46]. In der Veterinärmedizin wird ein Saponin aus *Quillaja saponaria* gegen die Maul- und Klauenseuche eingesetzt [35, 47].

1.2 Marine Organismen und ihre Naturstoffe

Früher dachte man, dass Korallen und Schwämme zu den Pflanzen gehören, da sie am Meeresboden fest angesiedelt sind und sich dadurch nicht fortbewegen können. Diese Meinung wurde durch die schönen leuchtenden Farben einiger Korallen und Schwämme, die an Blütenfarben von Pflanzen erinnerten, verstärkt. 1723 behauptete der französische Naturforscher Jean André Peyssonel, dass diese Lebensformen den Tieren zugeordnet werden müssten. Für seine Zeitgenossen war es unvorstellbar, dass Lebewesen ohne Arme, Beine und Gesicht Tiere sein könnten. Heute weiß man, dass Korallen und Schwämme zu den ältesten vielzelligen Organismen des Tierreiches gehören [48].



Abb. 7: Korallenriff mit Weichkorallen [232]

1.2.1 Struktur und Eigenschaften von Korallen

Korallen (Anthozoa, Blumentiere) bestehen aus zahlreichen winzigen Einzeltieren, den sog. Polypen, die einen gemeinsamen Organismus bilden [49]. Sie sind Hohltiere (Coelenterata) und gehören zu dem Stamm der Nesseltiere (Cnidaria) [50]. Coelenterata leitet sich aus den griechischen Worten koilos (Höhle) und enteron (Darm) ab [48]. Diese Bezeichnung beschreibt sie recht gut.

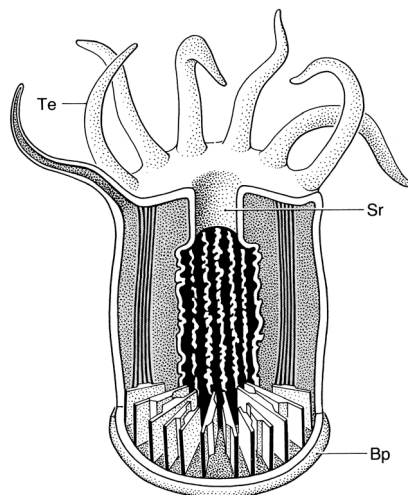


Abb. 8: Schematischer Querschnitt eines Polypen (Anthozoa), Bp: Basalplatte, Te: Tentakel, Sr: Schlundrohr [233]

Ihr Körper ist aus zwei Schichten Ektoderm und Entoderm aufgebaut, die eine riesige Körperhöhle einschließen, in der hauptsächlich die Verdauung der Nahrung stattfindet. Das Ektoderm (die Außenhaut) besteht größtenteils aus Muskelzellen, die die Kontraktion und Expansion der Koralle ermöglichen. Diese Bewegungen sind für den Gas- und Wasseraustausch wichtig. Das Entoderm (die Innenhaut) grenzt im Körperinneren an den Hohlraum an. Es besteht ebenfalls aus Muskelzellen, die aber ausschließlich der Nahrungsaufnahme dienen. Sie werden daher auch Nährmuskeln genannt. Über dem Hohlraum befindet sich die einzige Öffnung der Koralle – der Mund – durch den Nahrung aufgenommen wird und Abfallstoffe ausgeschieden werden. Um die Mundöffnung sind Fangarme (Tentakeln) angeordnet, mit denen die Beute gefangen wird. Charakteristisch für die Nesseltiere sind die Nesselkapseln (Cnidocysten) an den Tentakeln. Werden diese berührt, platzen sie auf und ein dünner spiralig aufgewickelter Faden, der ein stark lähmendes oder sogar tödliches Gift in seine Opfer injiziert, schießt explosiv heraus. Die unbewegliche Beute wird mit den Fangarmen zum Schlundrohr geschoben. Die Stärke des Nesselgiftes ist je nach Spezies verschieden und wirkt hauptsächlich nach zwei unterschiedlichen Prinzipien. Einerseits ist es ein Nervengift, das die Beute lähmt. Andererseits kann es die Opfer töten, da es die Funktion der Zellmembran aufheben kann. Das Gift macht die Membran für chemische Verbindungen durchlässig und hebt dadurch den osmotischen Druck in der Zelle auf. Die Nesselzellen dienen nicht nur zum Beutefang sondern auch als Verteidigung gegenüber Feinden [51].

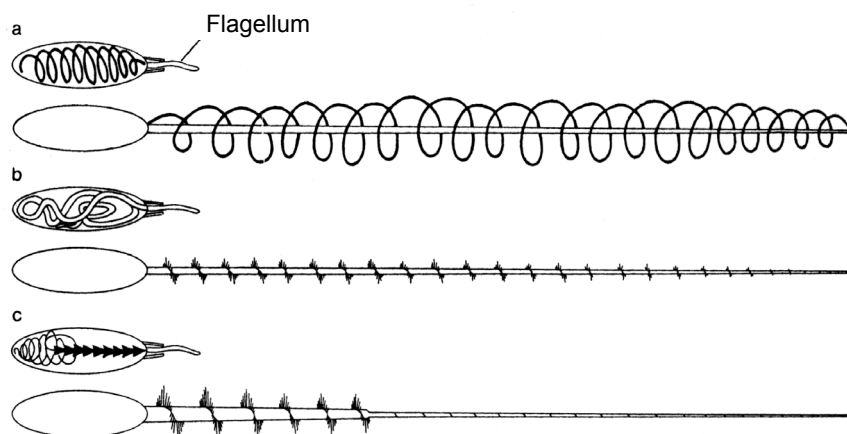


Abb. 9: Verschiedene Typen von Nesselkapseln, jeweils geschlossen (mit Auslöse-Flagellum) und entladen [234]

Neben Zooplankton und Phytoplankton ernähren sich die Korallen von Assimilationsprodukten, die sie von ihren Symbionten zu Verfügung gestellt bekommen. Die meisten Polypen gehen eine möglichst enge Lebensgemeinschaft (Symbiose) mit Algen (Zooxanthellen) ein. Diese siedeln sich im Entoderm der Polypen an, wo sie leben und sich vermehren [49, 52].

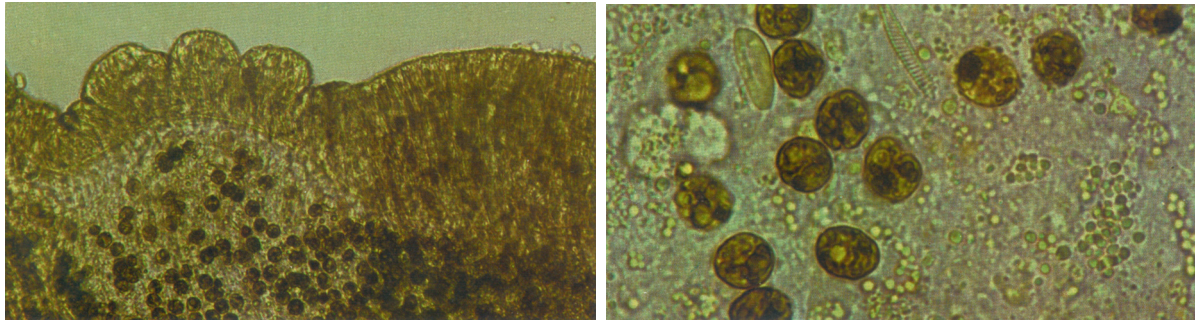


Abb. 10: Links: Ein Ausschnitt aus einer lebenden Tentakel der Pilzkoralle *Cycloseris cyclolites*, in dem man die zwei Zellschichten Ektoderm (oben) und Entoderm (unten) erkennt. Nur das Entoderm enthält Zooxanthellen, Verg. 300 X; Rechts: Einzelne Zooxanthellen als geißellose Kugeln. Durchmesser einer Zelle: 10 μm [171]

Zwischen Zooxanthellen und Polypen besteht ein wichtiger O_2 - und CO_2 -Austausch. Die Algen betreiben mit Wasser und dem freigesetzten CO_2 aus dem atmenden Korallengewebe Photosynthese. Dabei nutzen sie die Energie der Sonnenstrahlen. Dies ist der Grund, warum der Lebensraum vieler Korallen die sonnenlichtdurchfluteten Flachwasserbereiche in 3-30 Meter Tiefe sind.

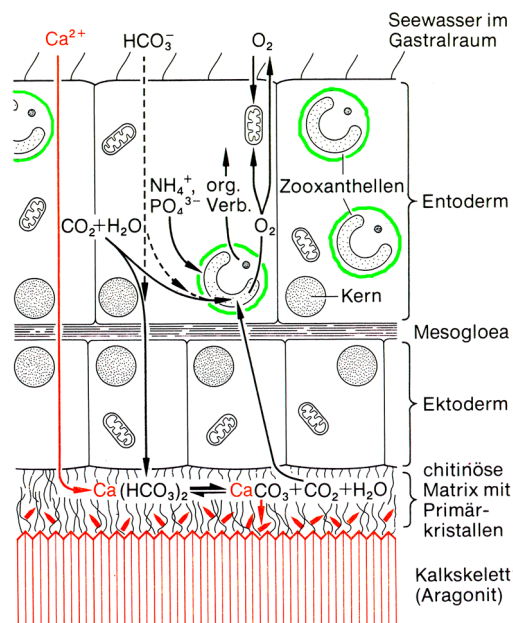


Abb. 11: Vereinfachtes Schema des Calcifikations- und Atmungsstoffwechsels von Korallen bei Licht unter Berücksichtigung der Rolle symbiotischer Algen [49].

Des Weiteren wird durch den CO_2 -Verbrauch in den Skelett aufbauenden Zellen der Polypen die Gleichgewichtsreaktion vom löslichen Calciumhydrogencarbonat $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ zum schwerlöslichen Calciumcarbonat CaCO_3 , der der Hauptbestandteil des Korallenskelettes ist, verschoben. Das bedeutet, je mehr CO_2 die Algen dem Stoffkreislauf der Koralle entnehmen, desto größer ist die Produktion von CaCO_3 . Die Zooxanthellen nutzen das CO_2 , um durch die Photosynthese Nährstoffe wie Glucose und Glycerin für sich und den Polypen zu produzieren. Im Austausch dazu erhalten die Algen neben dem interzellulären Schutz stickstoffhaltige Substanzen, die aus der Nahrung der Korallen stammen. Die Algen verwenden z. B. Ammoniumsalze um Aminosäuren herzustellen, die sie auch dem Wirtstier zuführen. Durch die Symbiose können die Korallen weit über 90% ihres Nahrungsbedarfs durch das Sonnenlicht decken. Die bräunliche Färbung des Körpergewebes der Koralle weist auf die Algen hin (zooxanthellate Korallen). Anders ist es bei den azooxanthellaten Korallen, die wunderschön leuchtende Farben haben und meistens in tieferen Zonen des Korallenriffs leben [53-54]. Sie besitzen keine Symbiosealgen, da diese wegen Lichtmangel zugrunde gehen würden. Die Nahrungsquelle der azooxanthellaten Korallen ist Plankton (Zoo- und Phytoplankton), das sie aus dem strömenden Wasser in großen Mengen fangen. Ebenso nehmen sie bereits gelöste Substanzen aus dem Wasser auf. Die azooxanthellaten Korallen wachsen im Vergleich zu den zooxanthellaten Korallen langsamer und ihre Koloniegröße ist dadurch kleiner.

Die Fortpflanzung der Korallen geschieht entweder auf geschlechtliche oder ungeschlechtliche Weise. Zwitter-Korallen (geschlechtliche Fortpflanzung) stoßen einmal im Jahr gleichzeitig Ei- und Samenzellen aus. Nach der Befruchtung bilden sich Larven, die an der Wasseroberfläche schwimmen und sich von ihrer Heimatkolonie fortbewegen. Nach einigen Tagen setzen sich die Larven auf dem Meeresboden ab und können dort je nach herrschenden Umwelteinflüssen und Beschaffenheit des Untergrundes eine neue Kolonie gründen. Diese „Jungtiere“ können sich auch in bereits abgestorbenen Korallen einsiedeln und diese weiter ausbauen. Bei der ungeschlechtlichen



Abb. 12: Junge Weichkorallenkolonie mit ersten wenigen Polypen

Fortpflanzung (Knospung) teilt sich der Polyp und bildet durch weitere Teilung eine Kolonie. Diese befindet sich an dem Ort der Ursprungskolonie [55].

Nachdem Korallen und Schwämme sessile Lebewesen sind und einen kaum wirksamen morphologischen Schutzmechanismus haben, sind sie Fraßfeinden, Mikroorganismen und toxischen Substanzen ungeschützt ausgeliefert. Zur Abwehr bedienen sie sich eines hocheffizienten chemischen Verteidigungssystems [56]. Bioaktive Sekundärmetabolite schützen Korallen und Schwämme vor Fraßfeinden, wie Fischen, Schnecken und Würmern, oder verhindern Wachstum und Vermehrung von Bakterien, Pilzen und sogar Viren, die die marinen Organismen befallen [57]. Des Weiteren setzen sie bioaktive Metabolite zur Verteidigung ihrer heftig umkämpften Lebensräume im Riff ein. Korallen und auch Schwämme gehören unter den marinen Organismen zu den reichhaltigsten Produzenten von Naturstoffen sowohl im Hinblick auf die Vielfalt an chemischen Strukturen als auch an biologischen Aktivitäten; cytotoxisch, antibakteriell, entzündungshemmend, antiviral, fungizid und immunsuppressiv.

Bei der analytischen Untersuchung von Korallen und Schwämmen ist es notwendig den genauen Fundort anzugeben. Aufgrund der verschiedenen Nahrungsvorkommen und Wasserzusammensetzungen können in ihnen verschiedene Naturstoffe gebildet werden. Es kommt auch darauf an, gegen welche Gefahren sie sich schützen müssen. Beispielsweise kann aus den Korallen *Sarcophyton* sp., die bei Bonotsu, Kagoshima (Japan) gesammelt werden, das dreizehngliedrige Cembranoid Sarcotolacetat isoliert werden. Sarcotolacetat weist ichthyotoxische Wirkung gegen den japanischen Fisch *Oryzia latipes* auf [58]. In *Sarcophyton* sp. aus anderen Regionen konnte kein Wirkstoff gegen *Oryzia latipes* gefunden werden. Der Grund dafür ist, dass in den anderen Gebieten dieser Fisch nicht lebt und die Koralle sich gegen ihn nicht zur Wehr setzen muss.

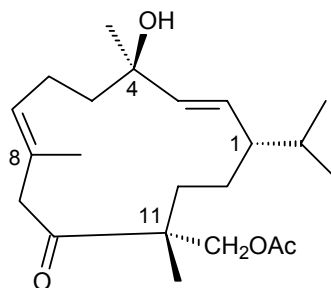


Abb. 13: Sarcotolacetat, das ichthyotoxisch gegen *Oryzia latipes* wirkt

1.2.2 Struktur und Eigenschaften von Schwämmen

Schwämme gehören zum Stamm Porifera. Der Name Porifera kommt von den lateinischen Worten porus (Pore) und fere (tragen) und bedeutet Porenträger [59]. Denn im Gegensatz zu den Korallen haben Schwämme viele Körperöffnungen [60].

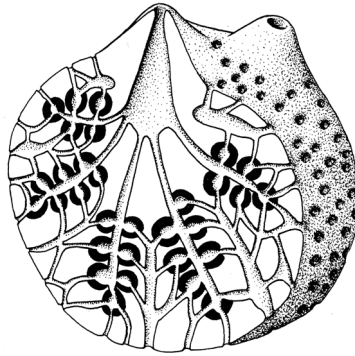


Abb. 14: Bauplan eines Schwammes [105]

Die zahlreichen Poren (Ostien) befinden sich in der Körperoberfläche (Pinacoderm). Das Wasser wird über sie durch ein Kanalsystem in den Schwammhohlraum (Spongocoel) gepumpt. In den Porenkanälen befinden sich in kleinen Hohlräumen (Geißelkammer) Millionen von Kragengeißelzellen (Choanocyten). Ihren Namen verdanken sie einem Kragen aus Plasmafortsätzen, der die Geißel umgibt. Die Kragengeißelzellen können durch regelmäßiges Rotieren oder wellenförmiges Schlagen der Geißeln einen kontinuierlichen Wasserstrom erzeugen [61].

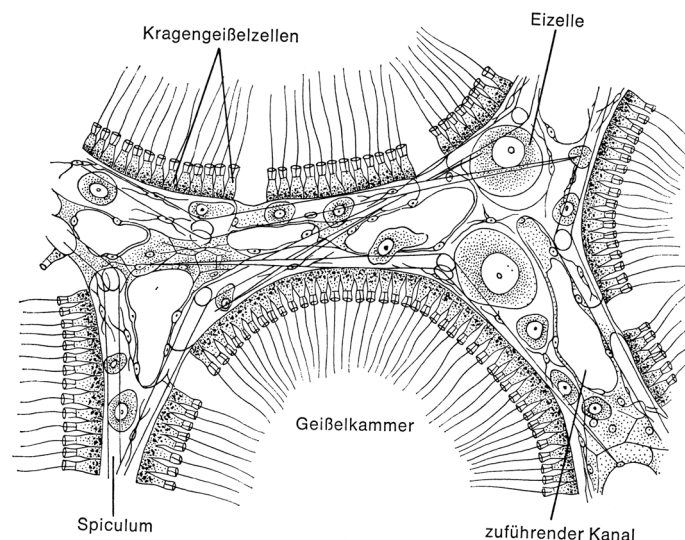


Abb. 15: Gewebeausschnitt von vier Geißelkammern. Die Lücken zwischen den Kragengeißelzellen entsprechen Kammerporen, über die zuführende Kanäle in die Kammern einmünden. Der Kragen der Choanocyten besteht aus einzelnen Mikrovilli [105]

Dadurch strömt das Wasser durch die Poren in das Kanalsystem. Die ausführenden Kanäle vereinen sich im Hohlraum, der eine oder mehrere Ausstromöffnungen (Osculum) besitzt, wo das gefilterte und mit Abfall versehene Wasser ausgestoßen wird. Auf diese Weise pumpt der Schwamm das 20.000-fache seines Körpervolumens an Wasser pro Tag durch seinen Körper [62]. Die Nahrung (Plankton und Schwebstoffe, wie Bakterien, Kleinalgen, Detritus [63]) wird in den Geißelkammern aus dem Wasser herausgefiltert, indem sie an den klebrigen Plasmakragen der Kragengeißelzellen haften bleiben. Das Kanalsystem ist in die bindegewebsartige Mittelschicht (Mesogloea) eingebettet, die die Hauptmasse des Schwammkörpers ausmacht [61]. Über das Wasserleitungssystem wird nicht nur die Nahrung und die Exkretion erledigt, sondern auch der lebensnotwendige Sauerstoff herbeitransportiert. Allerdings sind nicht alle Schwämme auf Nahrung im Umgebungswasser angewiesen, da sie wie die Korallen Symbionten besitzen, die einen Großteil ihres Nahrungsbedarfs decken [64].

Ihre Stabilität erhalten die Schwämme durch ein inneres Skelett aus Kalk- oder Silikatnadeln und Kollagenfasern. Ihr Aussehen ist außerordentlich vielseitig wie z. B. kugel- oder röhrenförmig bzw. lediglich ein dünner Überzug auf einem geeigneten Substrat [63]. Schwämme vermehren sich analog den Korallen ungeschlechtlich durch Knospung oder auch geschlechtlich [61, 63].

1.2.3 Sterole

Sterole (Sterine) gehören zu den einfachsten Steroidderivaten. Das Steroidgrundgerüst ist das Gonan, das aus vier kondensierten Ringen besteht. Sterine besitzen eine 3β -Hydroxygruppe und es befinden sich in der Regel noch zwei weitere anguläre Methylgruppen (C-18, C-19) an C-13 und C-10. Die Sterole unterscheiden sich hauptsächlich in der veränderten Seitenkette an Position 17, die β -konfiguriert ist.

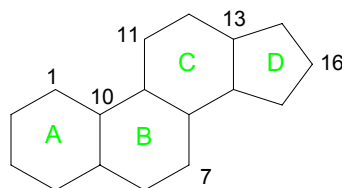


Abb. 16: Gonan ist das Grundgerüst der Steroide

Früher unterteilte man die Sterole in Phyto-, Zoo- und Mycosterine bis man feststellte, dass es keine typischen Vertreter für diese Gruppen gibt. Die meisten Sterole findet man sowohl in der Tier- oder Pflanzenwelt. Allerdings werden heute noch ein paar Sterole danach eingeteilt [65-66].

Cholesterol ist das wichtigste Sterin der Wirbeltiere und Menschen, da es frei oder verestert als Hauptbestandteil in allen Zellen des Körpers vorkommt, vor allem im Gehirn und Rückenmark. Einerseits ist es am Membranaufbau beteiligt, andererseits ist Cholesterol Ausgangsmaterial für viele andere Steroide. Es leitet sich biosynthetisch wie die Triterpene vom Squalen ab. Dieses wird bei beiden zum Squalen-2,3-epoxid oxidiert, allerdings ist eine andere Faltung wahrscheinlich die Voraussetzung für die Cyclisierung zu Lanosterol (Produkt bei Menschen, Tieren und Pilzen) und Cycloartenol (Produkt bei Pflanzen). Aus dem jeweiligen Cyclisierungsprodukt wird dann Cholesterol gebildet [67].

Der Mensch nimmt Cholesterol hauptsächlich in Form von tierischen Nahrungsmitteln zu sich, kann es aber auch selber im Körper produzieren. Cholesterol ist beispielsweise Hauptbestandteil der menschlichen Galle. Im Jahre 1775 isolierte Conradi zum ersten Mal Cholesterol aus Gallensteinen. Daher erhielt diese Verbindung auch ihren Namen; denn im griechischen bedeutet chole = Galle und steros = fest. Cholesterol ist des Weiteren für lebenswichtige Funktionen im Körper des Menschen zuständig. Eine Störung des Cholesterolstoffwechsels kann besonders im Alter zur Arterienverkalkung (Arteriosklerose) führen, d. h. zur Ablagerung von Cholesterol an den Arterienwänden [65].

Im Vergleich zum Cholesterol haben Sterole aus Pflanzen ein oder zwei Alkylgruppen in der Seitenkette mehr und meistens noch eine Doppelbindung. Oft vorkommende Vertreter in Pflanzen sind Stigmasterol und β -Sitosterol. Früher glaubte man, dass Cholesterol ein typisches tierisches Sterol sei, aber mittlerweile kann man es auch in Pflanzen nachweisen [68].

Bei Korallen, die in Korallenriffen leben, hat man festgestellt, dass das Hauptsteroid nicht Cholesterol sondern 24 ξ -Methylcholesterol ist [69]. Des Weiteren ist interessant, dass Gorgosterol, ein Sterol mit einem Cyclopropanring in der Seitenkette, bis jetzt nur in Anthozoen gefunden wurde [70]. Man vermutet, dass die Gorgosterol-Biosynthese von Brassicasterol ausgehend über Dinosterol läuft. Dabei soll das C-23 im Brassicasterol methyliert werden, gefolgt von einer Cyclopropanierung der Doppelbindung an Position C₂₂-C₂₃ [71].

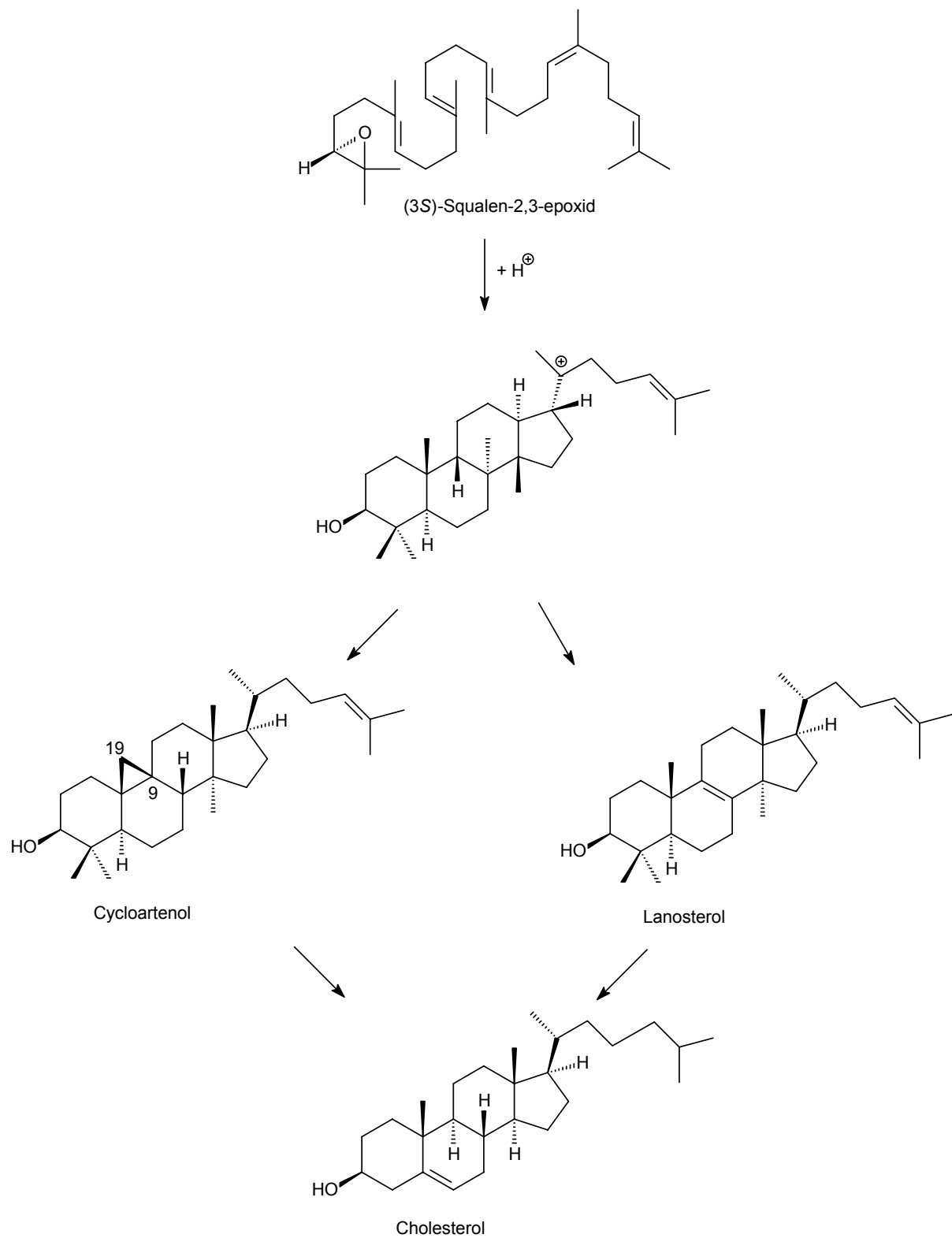


Abb. 17: Biosynthese von Cholesterol über Cycloartenol (bei Pflanzen) und Lanosterol (bei Tieren)
[67]

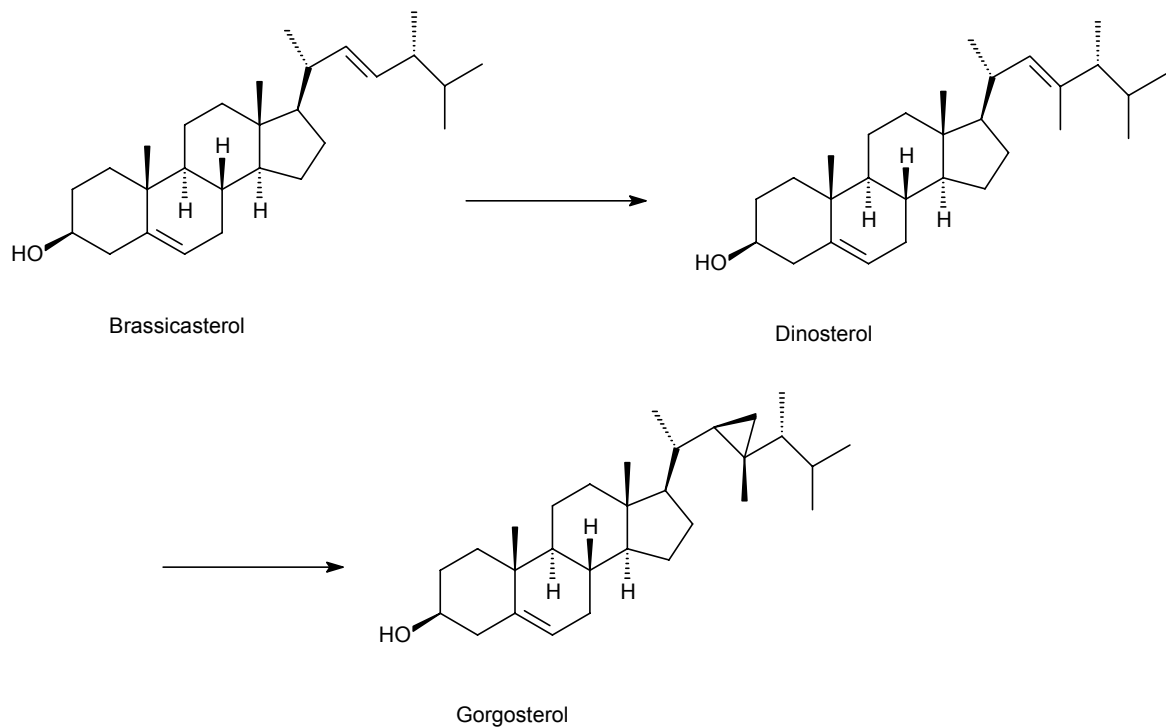


Abb. 18: Biosynthese von Gorgosterol

Gorgosterol wird nur in Organismen gefunden, die Zooxanthellen beinhalten. Kokke *et al.* haben allerdings in den isolierten Zooxanthellen kein Gorgosterol gefunden. Dies deutet darauf hin, dass sie in Symbiose produziert werden. Goad berichtet über vier mögliche Quellen für Steroide. Jeder Organismus muss ein Gleichgewicht finden zwischen der *de novo* Biosynthese, Assimilation und Modifikation von Steroiden, die durch die Nahrung aufgenommen werden und der Assimilation von Steroiden, die von Gastorganismen (Algen, Bakterien, Pilzen) während der Symbiose produziert werden [71].

In marinen Organismen, vor allem in Korallen und Schwämmen, hat man mittlerweile neben den terrestrischen Sterolen viele neue interessante Sterole isolieren können [71]. 24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 β ,7 β ,19-triol und vier weitere Sterole aus der Weichkoralle *Nephthea erecta* (Green Island, Taiwan) weisen eine signifikante Cytotoxizität bei den Krebszelllinien A549 (humaner Lungenkrebs), HT-29 (humaner Dickdarmkrebs), KB und P-388 (muriner Lymphknotenkrebs) auf [72]. Das Steroid Litosterol aus der Koralle *Nephthea* sp. (Rotes Meer) zeigt Wirkung gegen Tuberkulose. Es hemmt das Wachstum von *Mycobacterium tuberculosis* (H37Rv) um 90% mit einer MIC (Minimum Inhibitory Concentration) von 3.13 $\mu\text{g/ml}$ [73]. Es gehört somit zu einem der ersten antimycobakteriell aktiven Naturstoffe dieser

Verbindungsklasse. Ein weiteres Beispiel ist das Ibisterolsulfat aus dem Schwamm *Topsentia* sp., welches zellschützende Wirkung gegen HIV-1 zeigt ($EC_{50} = 10 \mu\text{g/ml}$) [74].

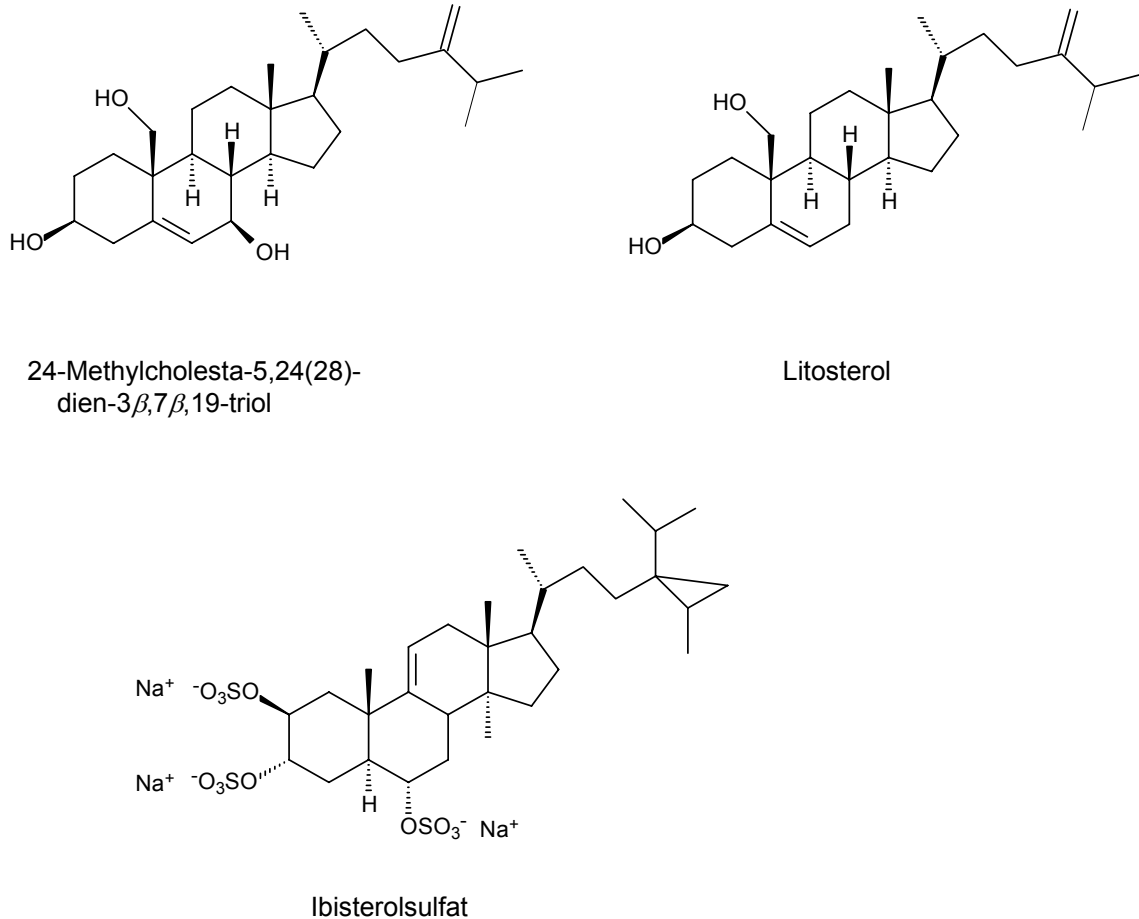


Abb. 19: Strukturen der marinen Sterole 24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 β ,7 β ,19-triol, Litosterol und Ibisterolsulfat

Identifiziert wurden die meisten Sterole bzw. Gemische über GC-MS-Messungen, deren MS-Daten mit einer Datenbank verglichen wurden. Die massenspektroskopische Fragmentierung der trimethylsilylierten Sterole ist gut untersucht und soll deshalb nur kurz am Beispiel des [24 \$\xi\$ -Methylcholesterols](#) und [Gorgosterols](#) skizziert werden.

Charakteristisch sind die Abspaltungen von 15 a.m.u., 90 a.m.u. und 90+15 a.m.u. Das Ion der Masse $[M-15]^+$ ([457/483](#)) ist auf die Eliminierung der 18-Methylgruppe zurückzuführen. Das Ion der Masse $[M-90]^+$ ([382/408](#)) wird durch

den Verlust von Trimethylsilanol gebildet. Anschließende Eliminierung der 18-Methylgruppe ergibt das Ion der Masse $[M-90-15]^+$ (367/393) [75].

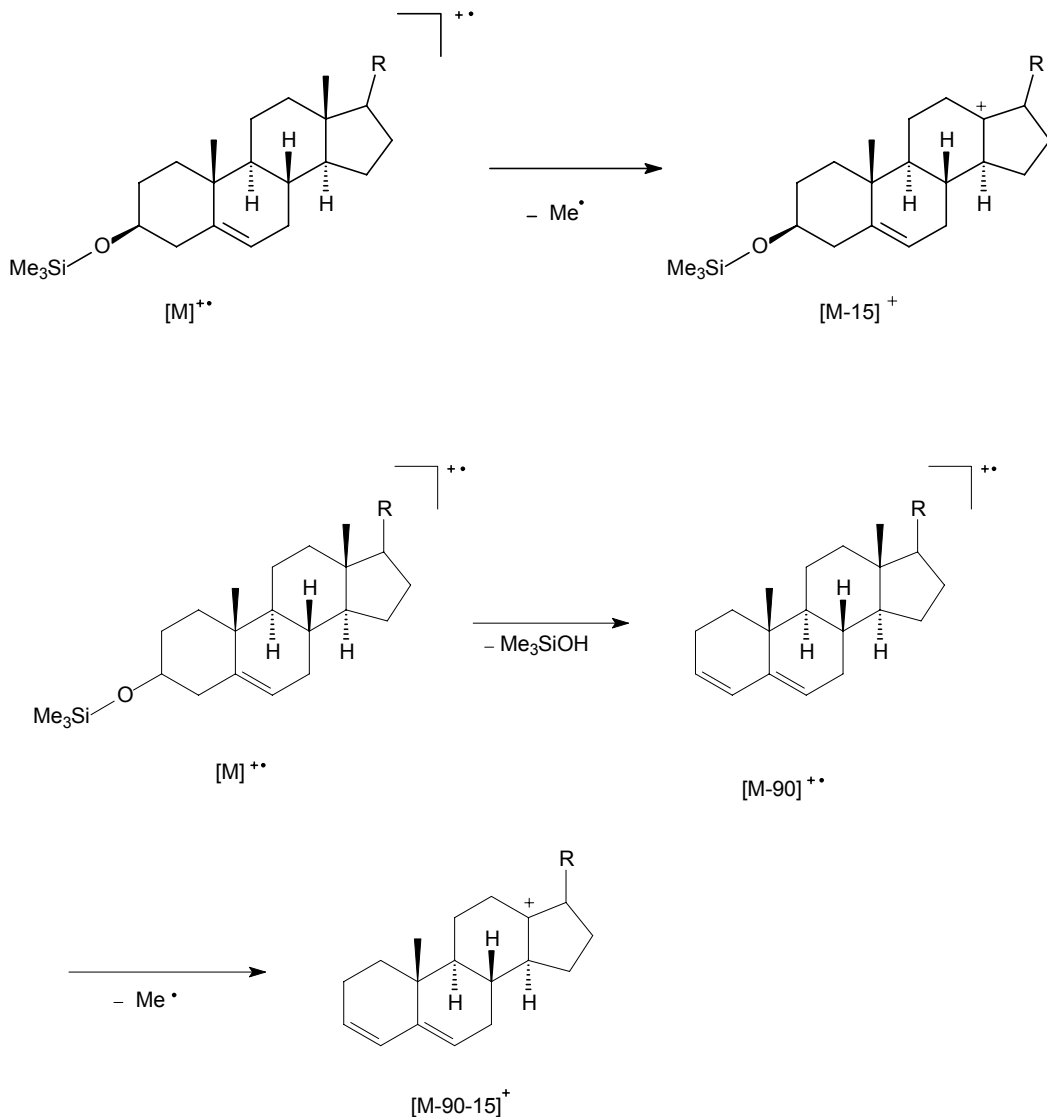


Abb. 20: Charakteristische Fragmentierung von Sterolen: Bruchstücke $[\text{M}-15]^+$, $[\text{M}-90]^+$ und $[\text{M}-90-15]^+$ [75]

Für Δ^5 -Sterole sind die Bruchstücke der Masse m/z 129 und $[\text{M}-129]^+$ (343/369) charakteristisch, die durch die Fragmentierung des A-Rings gebildet werden. Es kommt zur Bildung eines Ions bzw. eines Radikals, das sich aus C-1, C-2 und C-3 sowie der TMS-Gruppe an C-3 zusammensetzt [76].

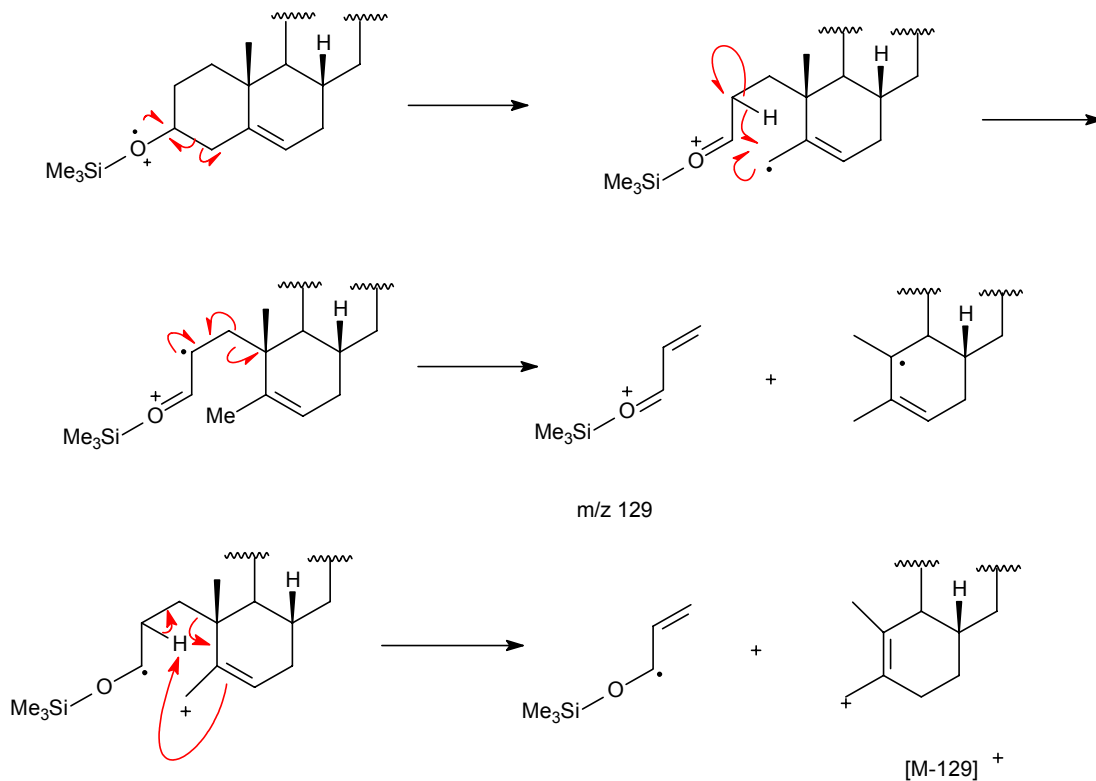


Abb. 21: Charakteristische Fragmentierung des A-Rings von Sterolen: Bruchstücke m/z 129, [M-129]⁺ [76]

Neben der Fragmentierung des A-Rings im Sterolgrundgerüst sind in beiden Massenspektren der trimethylsilylierten Sterole der Verlust der Seitenkette und des D-Rings zu beobachten. Nach der Abspaltung der TMSOH-Einheit und der Eliminierung der Seitenkette (127 a.m.u/153 a.m.u) erhält man das Ion der Masse m/z 255 bei beiden Sterolen. Das um weitere 42 a.m.u kleinere Ion der Masse m/z 213 stammt aus einem D-Ring Fragment. [77].

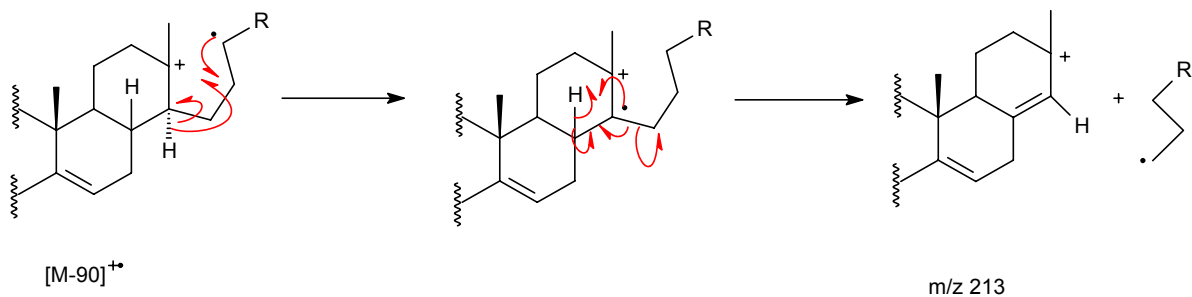


Abb. 22: Charakteristische Fragmentierung des D-Rings von Sterolen: Bruchstück m/z 213 [77]

Das Massenspektrum des trimethylsilylierten Gorgosterols zeigt einen Verlust von 112 a.m.u (m/z 386), welcher im Massenspektrum des trimethylsilylierten 24 ξ -Methylcholesterols nicht vorhanden ist. Dieses Fragment kann durch eine Teilabspaltung der Seitenkette entstehen. Die Bildung des Ions m/z 386 ist somit ein guter Hinweis auf den Cyclopropanring des Gorgosterols.

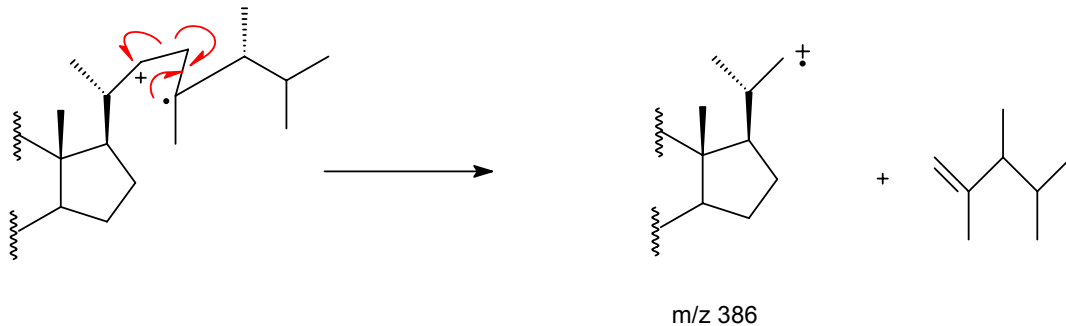


Abb. 23: Charakteristische Fragmentierung der Seitenkette von Gorgosterol: Bruchstück m/z 386

1.2.4 Sesquiterpene

Sesquiterpene, die 15 Kohlenstoff-Atome besitzen, sind die größte Untergruppe der Terpene und weisen eine riesige strukturelle Vielfalt auf. Bis heute konnten bereits Tausende unterschiedliche Sesquiterpene mit verschiedenen Grundgerüsten isoliert werden. Neben den acyclischen sind vor allem mono-, bi- und tricyclische Grundgerüste bekannt [78]. Pflanzen [79], Pilze [80] und marine Organismen [81-83] sind in der Lage Sesquiterpenoide zu synthetisieren. Die Biosynthese der verschiedenen Grundgerüste erfolgt immer ausgehend vom Farnesylpyrophosphat (FPP), das durch die entsprechenden Synthasen (Sesquiterpen-Cyclasen) katalysiert wird [84]. Das Pyrophosphat-Anion wird abgespalten und ein Carbokation erzeugt, aus dem durch Cyclisierung die verschiedenen Ringsysteme entstehen. Während der Cyclisierung können neben der Hydridverschiebung auch Wagner-Meerwein-Umlagerung, Deprotonierung bzw. Protonierung, COPE-Umlagerungen, erneute Cyclisierung und Hydroxylierungen stattfinden. Diese Vielfältigkeit erklärt warum aus FPP die unterschiedlichsten Grundgerüste wie beispielsweise Germacrane, Elemene, Humulane, Guajane und Eudesmane entstehen können (Abb. 23) [85].

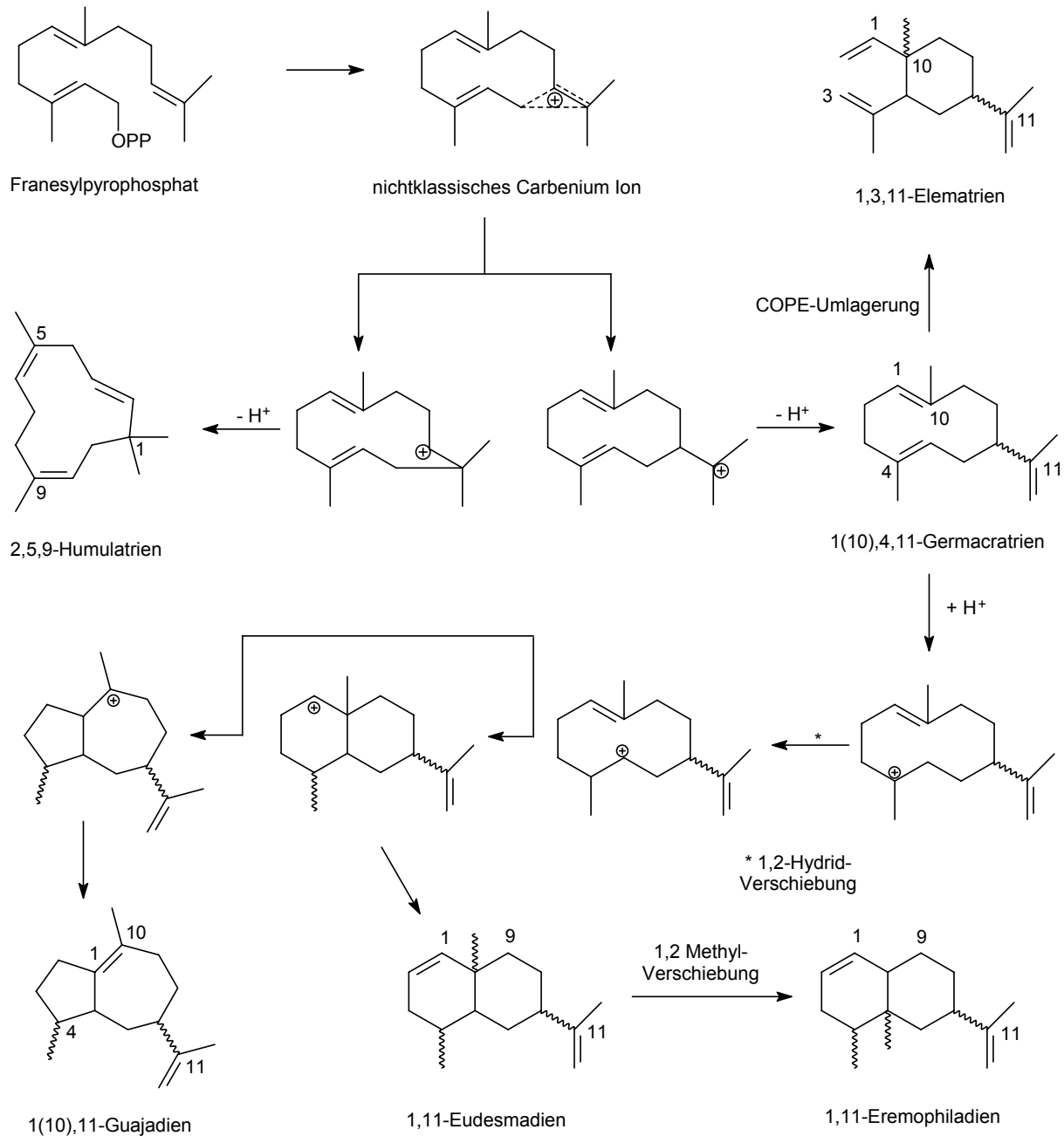


Abb. 24: Biogenese einiger mono- und bicyclischer Sesquiterpene aus Farnesylpyrophosphat [85]

Sesquiterpene spielen als Sekundärmetabolite eine wichtige Rolle. Ihre Aufgaben in Pflanzen sind bereits gut untersucht. Sie werden bei Stresssituationen bzw. Schädlings- und Pilzbefall synthetisiert und wirken beispielsweise als Insektenabwehrstoffe oder gegen Fraßfeinde. Des Weiteren kommen sie als Hormone und Pheromone in der Natur vor [86]. Allerdings dienen sie neben Pflanzen auch Pilzen, Insekten und Meeresorganismen zur Abwehr von Feinden. Die Funktion mariner Sekundärmetabolite z. B. als Kommunikationssignal oder Abwehrstoff wird

erst seit kurzem untersucht. Deswegen weiß man über die Bedeutung von Sesquiterpenoiden für die entsprechenden marinen Organismen kaum Bescheid. Bekannt ist, dass einige marine Sesquiterpene interessante pharmakologische Wirkungen besitzen.

Aus verschiedenen *Sinularia* Spezies ist das Furanosesesquiterpen (1'E,5'Z)-2-(2',6'-Dimethylocta-1',5',7'-trienyl)-4-furancarbonsäure bekannt [87]. Es inaktiviert *in vitro* das Bienengift-Protein Phospholipase A₂ (PLA₂). Dies ist von Interesse, da man hofft, mit geeigneten Inhibitoren der PLA₂ therapeutische Mittel zur Behandlung von Entzündungen zu finden [88].

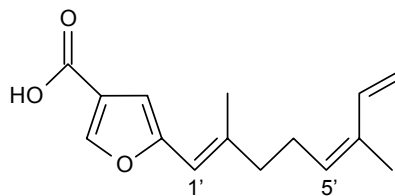


Abb. 25: (1'E,5'Z)-2-(2',6'-Dimethylocta-1',5',7'-trienyl)-4-furancarbonsäure aus *Sinularia* Spezies

Sesquiterpen Metaboliten aus der Koralle *Eunicea* sp. (Aguadilla, Puerto Rico) hemmen die Entwicklung des Malariaparasiten *Plasmodium falciparum*, der Träger der tödlichen Malaria tropica [89] ist. Des Weiteren sind Aktivitäten gegen verschiedene Krebszelllinien bekannt. Capnellen-8 β -ol (*Capnella imbricata*; Mayu Island, Molluca Sea, Indonesien) zeigt moderate Cytotoxizität gegen die humanen Krebszelllinien K-562 (humane Leukämie) (IC₅₀ = 4.6 μ M) und A2780 (humanes Adenokarzinom) (IC₅₀ = 6.6 μ M) [90]. 11,12-Dihydroxy-1(10),6-eremophiladien aus der Koralle *Lemnalia laevis* (Green Island, Taiwan) wirkt *in vitro* cytotoxisch gegen die Krebszelllinien P-388 und HT-29 (ED₅₀ = 0.21 und 0.33 μ g/ml) [91], sowie 4 α -O-Acetyl-11-eudesmen aus *Nephthea brassica* (Liouchou Island, Taiwan) mit einem ED₅₀ = 0.12 μ g/ml gegen die Krebszelllinie A549 [92].

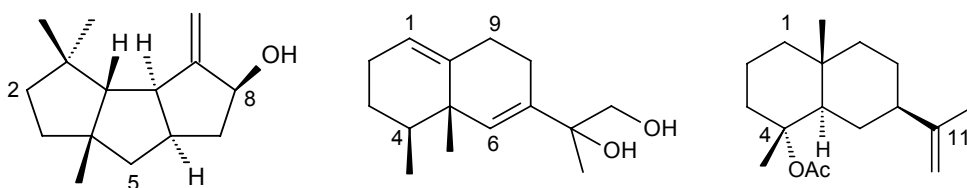


Abb. 26: Struktur von Capnellen-8 β -ol, 11,12-Dihydroxy-1(10),6-eremophiladien und 4 α -O-Acetyl-11-eudesmen [90-92]

Avaron, ein Sesquiterpenchinon aus dem Schwamm *Dysidea avara*, inhibiert die reverse Transkriptase (rT) des HI-1 Virus bereits bei einer Konzentration von 1 µg/ml [93]. Die Replikation des Virus wird dadurch gehemmt. Dies bedeutet die Unterdrückung der Vermehrung der AIDS-Viren. Vorteilhaft ist die zusätzliche cytoprotektive Wirkung auf nicht infizierte T-Helferzellen. Außerdem zeigen marine Sesquiterpene aus Korallen insektizide Effekte. Hydroxycolosenenon aus *Nephthea chabrolii* (Sinyaru Island, West Sumatra, Indonesien) wirkt gegen die frisch geschlüpften Larven des Schadinsektes *Spodoptera littoralis* [94], die Baumwoll-, Mais- und Tomatenpflanzen befallen.

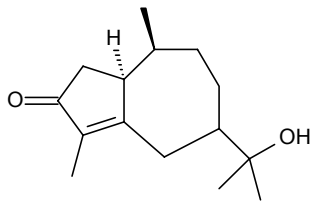


Abb. 27: Hydroxycolosenenon aus *Nephthea chabrolii*

1.2.5 Diterpene

Diterpene sind aus einer Isopren-Einheit mehr aufgebaut als Sesquiterpene. Sie besitzen ebenfalls eine große strukturelle Vielfalt und kommen zahlreich in der Natur vor [95]. Sie leiten sich von Geranylgeranyldiphosphat ab, das durch die Diterpen-Synthasen (Cyclasen) in die verschiedenen Grundgerüste umgewandelt wird [96].

Eine bekannte Verbindung ist das Vitamin A, das zum ersten Mal 1931 von Karrer aus dem Leberöl des Heilbutts gewonnen wurde. Dieser ungesättigte Diterpenalkohol ist eines der wichtigsten Vitamine, das sowohl für das normale Wachstum von Knochen und Zähnen, als auch für die Sehfähigkeit verantwortlich ist. Des Weiteren wirkt Vitamin A gegen Infektionen und hat antiallergische Eigenschaften. Ein Vitamin A Mangel führt zur Nachtblindheit, Xerophthalmie (Hornhautaustrocknung) und Wachstumsstörungen. Vitamin A kann allerdings für den Menschen in hohen Dosen giftig sein [97].

In den letzten Jahren konnten zahlreiche Diterpene aus marinen Organismen, vor allem Korallen und Schwämmen, isoliert werden. Diese haben ein großes Interesse auf Grund ihrer pharmakologischen Wirkungen geweckt.

In der Hornkoralle *Pseudopterogorgia elisabethae* (Bermudas) fand man die entzündungshemmende Verbindung Pseudopterosin E [98]. Erste Testungen ergaben, dass sie bei topikaler Verabreichung die durch Phorbolester hervorgerufene Ohrenentzündung bei Mäusen besser reduziert als das nicht-steroidale Medikament Indometacin, das bereits als entzündungshemmendes Mittel im Handel ist [99]. Ihr ED_{50} -Wert bei topikaler Verabreichung liegt bei $38 \mu\text{g}/\text{Ohr}$. Neben der entzündungshemmenden Aktivität ist es auch wichtig, dass der LD_{50} -Wert bei Mäusen über 300 mg/kg Körpergewicht liegt. Das bedeutet, dass auch höhere Dosen zur Behandlung der Maus ohne toxische Nebenwirkungen angesetzt werden können [98]. Heute gehört Pseudopterosin E mit seiner entzündungshemmenden und schmerzlindernden Wirkung zu einem der bekanntesten aktiven marinen Sekundärmetaboliten. Die Firma Estée Lauder verwendet Pseudopterosin E in der Produktreihe Resilience[®] als Additiv zur Abmilderung von entzündlichen Hautschädigungen. Für diese Creme-Produktion müssen 5.000 kg der Hornkoralle *Pseudopterogorgia elisabethae* im Jahr geerntet werden. Deshalb wird versucht diese Koralle, die in 25 bis 35 Meter Tiefe vorkommt, entlang eines 100 km langen Küstenstreifens an den Bahamas per Hand zu sammeln. Nach 28 Monaten haben sich die Bestände erholt und es kann erneut geerntet werden. Dies ist das erste Projekt, bei dem Korallen aus natürlichen Ressourcen gesammelt und für den kommerziellen Verbrauch verwendet werden [100].

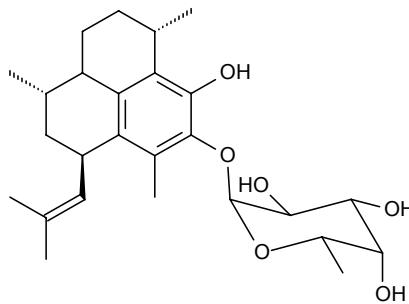
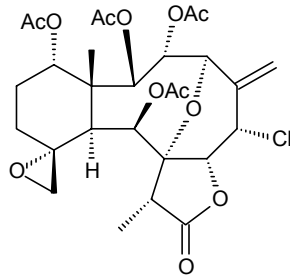


Abb. 28: Pseudopterosin E aus der Hornkoralle *Pseudopterogorgia elisabethae*

Entsprechend der Zusammensetzung des Meerwassers ist es nicht ungewöhnlich, dass man Halogen-Verbindungen in Meeresorganismen findet. So zum Beispiel das Diterpen Praelolid aus der Koralle *Gorgonella umbraculum* (Bucht von Bengalen), welches sogar in der Volksmedizin in der Gegend von Tuticorin eingesetzt wird. Praelolid zeigt eine antivirale Aktivität gegen die Viren *Herpes simplex* Typ I und II [101].

Abb. 29: Praelolid aus *Gorgonella umbraculum*

Das Cembranoid Lobohedleolid, das aus der Koralle *Lobophytum* sp. (Philippinen) bekannt ist, besitzt *in vitro* antivirale Wirkung gegen HIV-1 [102]. Aus der Koralle *Litophyton* sp. (Sukumo Bay) wurde Litophynin B isoliert, das das Wachstum der Seidenraupe *Bombyx mori* L. mit einem ED₅₀-Wert von 2.7 ppm hemmt [103]. Somit besitzen marine Diterpene ebenfalls interessante biologische Wirkungen.

Marine Diterpene zeigen auch Aktivitäten gegenüber bestimmten Krebszelllinien. Beispielsweise arretiert das Cembranoid Decaryiol aus *Nephthea* sp. (Ra-Ra Riff, Raki Raki, Fidschi Inseln) den Zellteilungszyklus in der G2/M-Phase [104]. Große Beachtung gilt ebenso cytotoxischen Effekten der Sekundärmetabolite gegenüber den Krebszelllinien P-388, Hepa 59T/VGH, KB, A549 und HT-29 (Abb. 29, Tab. 1).

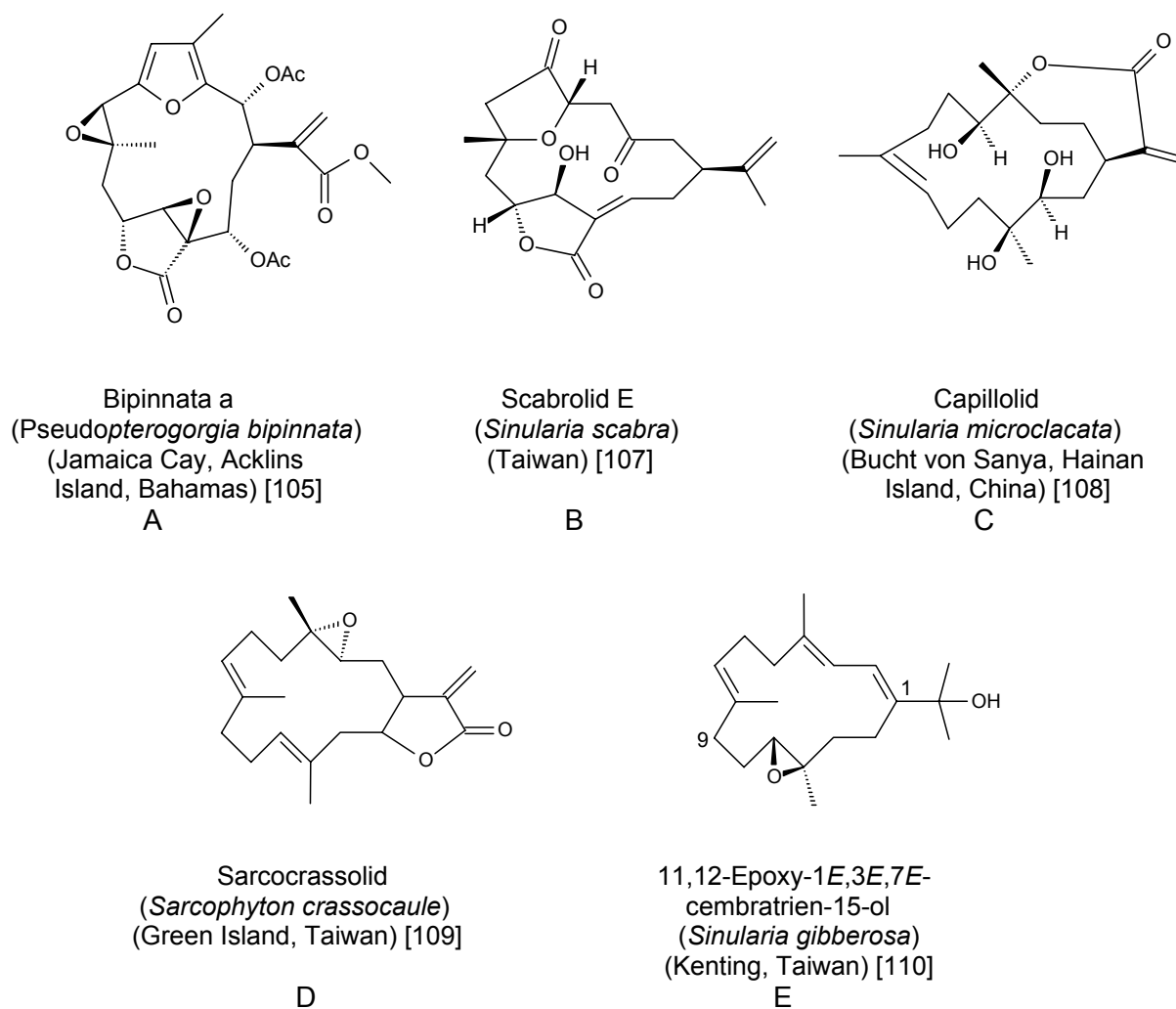


Abb. 30: Cytotoxisch wirkende Diterpene aus Korallen

Krebs- zelllinien	A	B	C	D	E
	IC ₅₀ (µg/ml)	ED ₅₀ (µg/ml)	IC ₅₀ (µg/ml)	ED ₅₀ (µg/ml)	ED ₅₀ (µg/ml)
P-388	0.9			0.16	0.01
Hepa 59T/VGH		0.5			
A-549			0.5	8.31	1.03
HT-29				7.55	0.64
KB		0.7		9.15	0.63

Tab. 1: Cytotoxizität der Diterpene A-E aus Korallen [106-110]

Cembran-Diterpene, die von dem vierzehngliedrigen Grundskelett des Cembrans abstammen, kommen häufig in Korallen vor. Cembren A bildet sich direkt aus Geranylgeranylpyrophosphat durch Cyclisierung des erhaltenen Allyl-Kations (Abb. 31) [85].

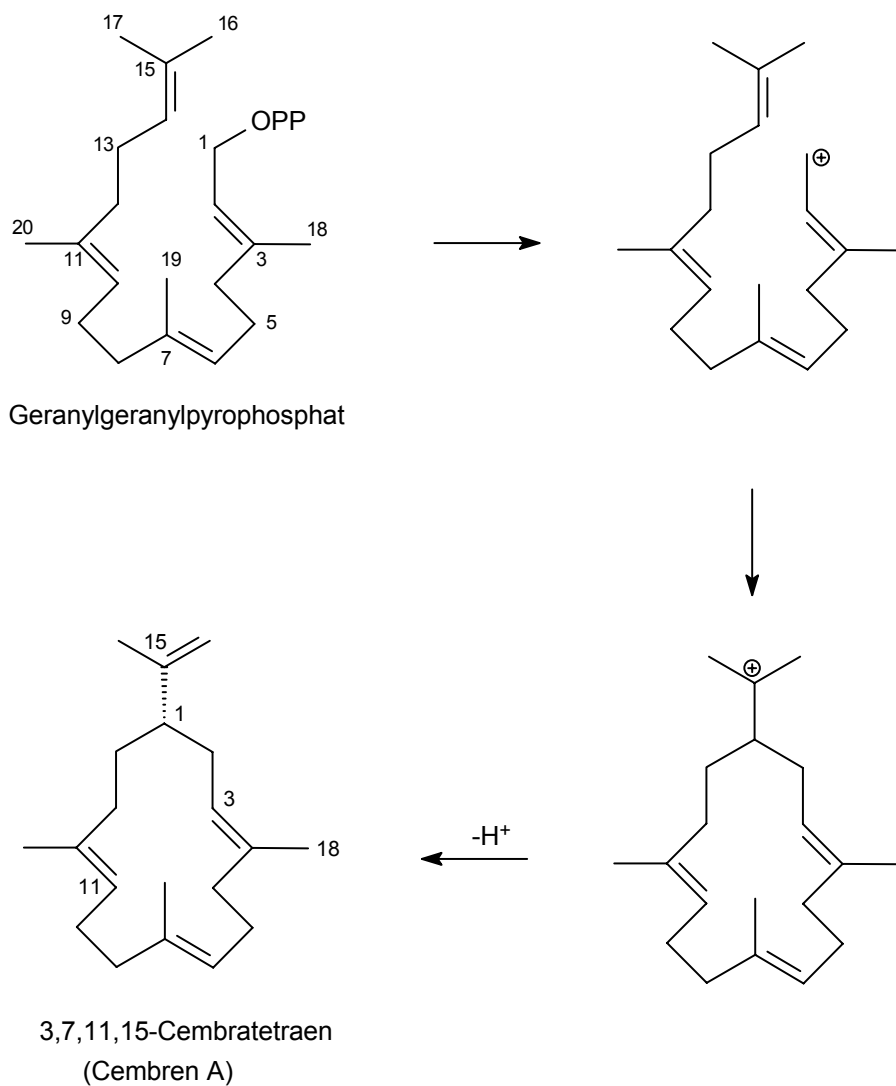


Abb. 31: Biosynthese von Cembren A aus Geranylgeranylpyrophosphat [85]

1.3 Verwendete Methoden

1.3.1 Kernspinresonanz (NMR)

Die kernmagnetische Resonanz oder Nuclear Magnetic Resonance (NMR) ist eine spektroskopische Methode, die auf der Wechselwirkung zwischen Atomkernen und elektromagnetischer Strahlung in einem äußeren homogenen Magnetfeld beruht. Atome mit einer ungeraden Ordnungszahl besitzen ein magnetisches Moment. Dieses richtet sich in einem starken Magnetfeld parallel (energieärmere Orientierung) oder antiparallel (energiereichere Orientierung) zum angelegten Feld aus. Die Energiedifferenz zwischen diesen beiden Zuständen, die im Bereich langwelliger elektromagnetischer Strahlung (Radiowellen) liegt, hängt von der Stärke des angelegten äußeren Magnetfeldes und der Größe des kernmagnetischen Momentes ab. Entspricht die Energiezufuhr einer eingestrahnten Radiowelle der Energiedifferenz, wird diese Frequenz absorbiert. Die magnetischen Momente der Kerne werden dabei von dem energetisch günstigen Zustand in den energetisch ungünstigen überführt. Dieser Vorgang heißt magnetische Resonanz. Im umgekehrten Prozess – der Relaxation – wird magnetische in thermische Energie umgewandelt. Da das angelegte Magnetfeld am Atomkern durch induzierte Sekundärfelder der Elektronen verstärkt oder geschwächt werden kann, sind diese auftretenden Energiedifferenzen keine Konstante. Dies ist der Grund warum sich Kerne mit unterschiedlicher elektronischer Umgebung in ihrer Resonanzfrequenz unterscheiden [111].

Die ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektroskopie bilden die Grundlage für viele Strukturermittlungen in der organischen Chemie. Neben den eindimensionalen Spektren sind die zweidimensionalen Experimente mittlerweile genauso wichtig. Dazu gehören die homonuklearen Protonenexperimente ^1H , ^1H -COSY (^1H , ^1H -**C**orrelated **S**pectroscopy), ROESY (**R**otating frame **N**OESY) und NOESY (**N**uclear **O**verhauser **E**ffect **S**pectroscopy), die heteronuklearen Experimente HMQC (**H**eteronuclear **M**ultiple **Q**uantum **C**orrelation) und HMBC (**H**eteronuclear **M**ultiple **B**ond **C**orrelation), sowie das kombinierte Experiment HMQC-COSY.

Um die ^{13}C -Signale von CH_3 -, CH_2 -, CH -Gruppen und quartären Kohlenstoffatomen unterscheiden zu können, wurde das J-modulierte Spinecho-Experiment angewendet. Es liefert für Signale von quartären Kohlenstoffen und CH_2 -Gruppen ein anderes Vorzeichen als für Signale von CH - und CH_3 -Gruppen.

Das ^1H , ^1H -COSY-Experiment korreliert die ^1H -Verschiebungen der koppelnden Protonen eines Moleküls. Im Spektrum unterscheidet man zwei Typen von Signalen. Zum einen diejenigen, die auf der Diagonale liegen, denen das eindimensionale NMR-Spektrum entspricht. Zum anderen die Crosspeaks auf der Fläche, auch Kreuz- oder Korrelationssignale genannt, die Kopplungen zwischen einzelnen Protonen anzeigen. Zieht man ausgehend von diesen Crosspeaks senkrechte und waagrechte Linien zur Diagonalen, befinden sich dort die Signale der koppelnden Protonen. Aus dem ^1H , ^1H -COSY erhält man Information über vicinale, geminale und sogenannte W-Kopplungen der Protonen eines Moleküls [112-113].

Im ROESY- und NOESY-Experiment kann die räumliche Nähe von Protonen erkannt werden. Man macht sich die Übertragung der Magnetisierung von einem zu benachbarten Protonenkern zunutze (dipolare Wechselwirkung), den sog. Kern-Overhauser-Effekt. Mit dieser Methode ist es beispielsweise möglich, die relative Position von Substituenten zu bestimmen [114].

Die heteronuklearen HMQC- und HMBC-Experimente werden invers gemessen, das heißt, es werden nicht die unempfindlichen ^{13}C -Kerne, sondern die 6.000-mal empfindlicheren Protonen zur Signaldetektion verwendet. Im HMQC-Experiment korreliert in der F_1 -Achse die ^{13}C -Verschiebung mit den ^1H -Verschiebungen in der F_2 -Achse über direkte $^1J_{\text{CH}}$ -Kopplungen. Man erhält über die Crosspeaks die genaue Zuordnung der Protonen zu den jeweiligen Kohlenstoffatomen [115].

Das HMBC-Experiment gibt Auskunft über CH-Beziehungen über mehrere Bindungen. Optimiert wurde diese Methode auf $^3J_{\text{CH}}$ -Kopplungen, aber im Spektrum erkennt man neben den CH-Korrelationen über 3 Bindungen auch welche über 2 oder 4 Bindungen. Auf diese Weise ist es möglich, auch quartäre Kohlenstoffatome zuzuordnen [115].

1.3.2 Massenspektrometrie

Die zu untersuchende Substanz wird bei der Massenspektrometrie im Hochvakuum verdampft und durch Beschuss mit beschleunigten Elektronen ionisiert. Es entstehen geladene Ionen, die durch ein elektrisches Feld beschleunigt werden. Anschließend werden die geladenen Molekül-Ionen in einem homogenen Magnetfeld proportional zu ihrer Masse aufgetrennt [116].

Bei der Elektronenstoß-Massenspektrometrie (EI-MS) besitzen die beschleunigten Elektronen, die zur Ionenerzeugung verwendet werden, meist eine Energie von 70 eV. Auf Grund dieser hohen Energie werden neben dem Molekül-Radikal-Kation auch geladene Fragment-Ionen gebildet [111]. Erhält man kein Molekül-Ion-Signal, da die Fragmentierungsreaktionen überwiegen, die Verbindungen zu groß oder schwer verdampfbar sind, verwendet man eine andere Ionisierungsmethode, wie FAB-MS (Fast Atom Bombardement) bzw. auch LSI-MS (Liquid Secondary Ion Mass Spectrometry) genannt. Die gelöste Probe wird auf eine Glycerin-Matrix aufgebracht und mit Primärionen (Cs^+) beschossen. Es bilden sich Sekundärionen ($[\text{M-H}]^+$) aus den zu untersuchenden Molekülen, die im Massenanalysator detektiert werden. Durch diese weiche Ionisierung erhält man das um eine Masseneinheit erniedrigte Molekülion und wenige Fragmentationen, die durch Abspaltung leicht eliminierbarer Gruppen entstehen [117-118].

Die Elektrospray-Ionisation (ESI) ist ein weiteres Verfahren, um die molare Masse zu bestimmen. Die Substanzlösung wird in eine Kammer gesprüht und strömt als Sprühnebelstrahl durch eine zylindrische Elektrode, so dass geladene Tröpfchen entstehen, die unter Verdampfung des Lösungsmittels kleiner werden. Mit dieser Methode können große Moleküle sowie Verbindungen, die bei EI-MS zu stark fragmentieren, untersucht werden. Ein Elektrospray-Massenspektrometer kann mit einer HPLC gekoppelt werden [118].

Mithilfe der hochauflösenden ESI-MS (HR-ESI-MS) kann durch Zugabe von Brucin als internen Standard die hochaufgelöste Masse von dem zu untersuchenden Molekül bestimmt werden.

Das Massenspektrometer (MS) kann mit einem Gaschromatografen (GC) gekoppelt werden. Dabei trennt der GC die zu untersuchenden Substanzgemische auf und das MS dient als Detektor. Der Vorteil von GC-MS ist, dass nur geringe Substanzmengen im Nanogramm-Bereich benötigt werden, um ein Spektrum zu erhalten. Allerdings müssen die Substanzen verdampfbar sein [118-119]. Mithilfe des GC-MS lassen sich beispielsweise Steroidgemische untersuchen, wobei die Strukturbestimmung durch computerunterstützte Vergleiche mit Spektren einer Bibliothek erfolgt.

1.3.3 Bestimmung der Reihenzugehörigkeit der Zucker

In der Natur kommen manche Zucker wie die Arabinose sowohl in der D- als auch in der L-Form vor. Deswegen ist es notwendig, die Reihenzugehörigkeit der Monosaccharide zu bestimmen. Dies ist weder mithilfe von NMR-Experimenten noch durch GC-Trennungen an Normalphasen möglich, da die Enantiomerenpaare nach Trimethylsilylierung mit MSTFA identische Retentionszeiten zeigen. Reznicek *et al.* [120] und Gerwig *et al.* [121] entwickelten eine Methode, die die Trennung der Diastereomeren mittels GC an einer Normalphase erlaubt. Die zu einem Enantiomerenpaar gehörenden Monosaccharide, z. B. β -D-Glycopyranose und β -L-Glycopyranose werden mit (*R*)-(-)-2-Butanol umgesetzt. Dadurch wird das Enantiomerenpaar in ein Diastereomerenpaar überführt, das sich nach Trimethylsilylierung mittels GC trennen lässt.

Für die Bestimmung der Reihenzugehörigkeit der Zuckereinheiten der Triterpensaponine werden davon 500 μ g hydrolysiert und das getrocknete Hydrolysat mit (*R*)-(-)-2-Butanol umgesetzt. Die Zuordnung der Monosaccharideinheiten zur D- oder L-Reihe erfolgt durch den Vergleich der Retentionsindizes des trimethylsilylierten Produkts mit denen der Referenzverbindung.

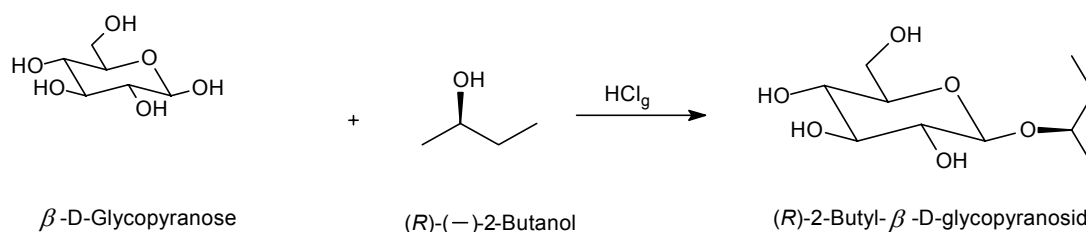


Abb. 32: Bestimmung der Reihenzugehörigkeit von Monosacchariden am Beispiel der β -D-Glycopyranose

2 Isolierung und Strukturbestimmung

2.1 Untersuchung von Pflanzen

Die getrockneten Blätter von *Zizyphus spina-christi* wurden zerkleinert, mit einem Methanol/Wasser-Gemisch (7:3) extrahiert und der Extrakt zur Trockene eingeeengt. Dieser Rohextrakt wurde in Wasser aufgenommen und mit Diethylether ausgeschüttelt. Anschließend wurde die erhaltene wässrige Phase mit n-Butanol versetzt. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und der n-Butanol-Extrakt durch Säulenchromatografie an Kieselgel und Sephadex LH-20 weiter untersucht.

Die Isolierung der Verbindungen aus der Pflanze *Solenostemma argel* (Del.) Hayne wurde von einem Kollegen von Dr. Kamel Shaker (National Research Centre, Cairo) durchgeführt und zur Strukturaufklärung zu uns geschickt.

2.1.1 Zwei Triterpensaponine und Kämpferol 3-O-robinobiosid aus *Zizyphus spina-christi*

Beschreibung

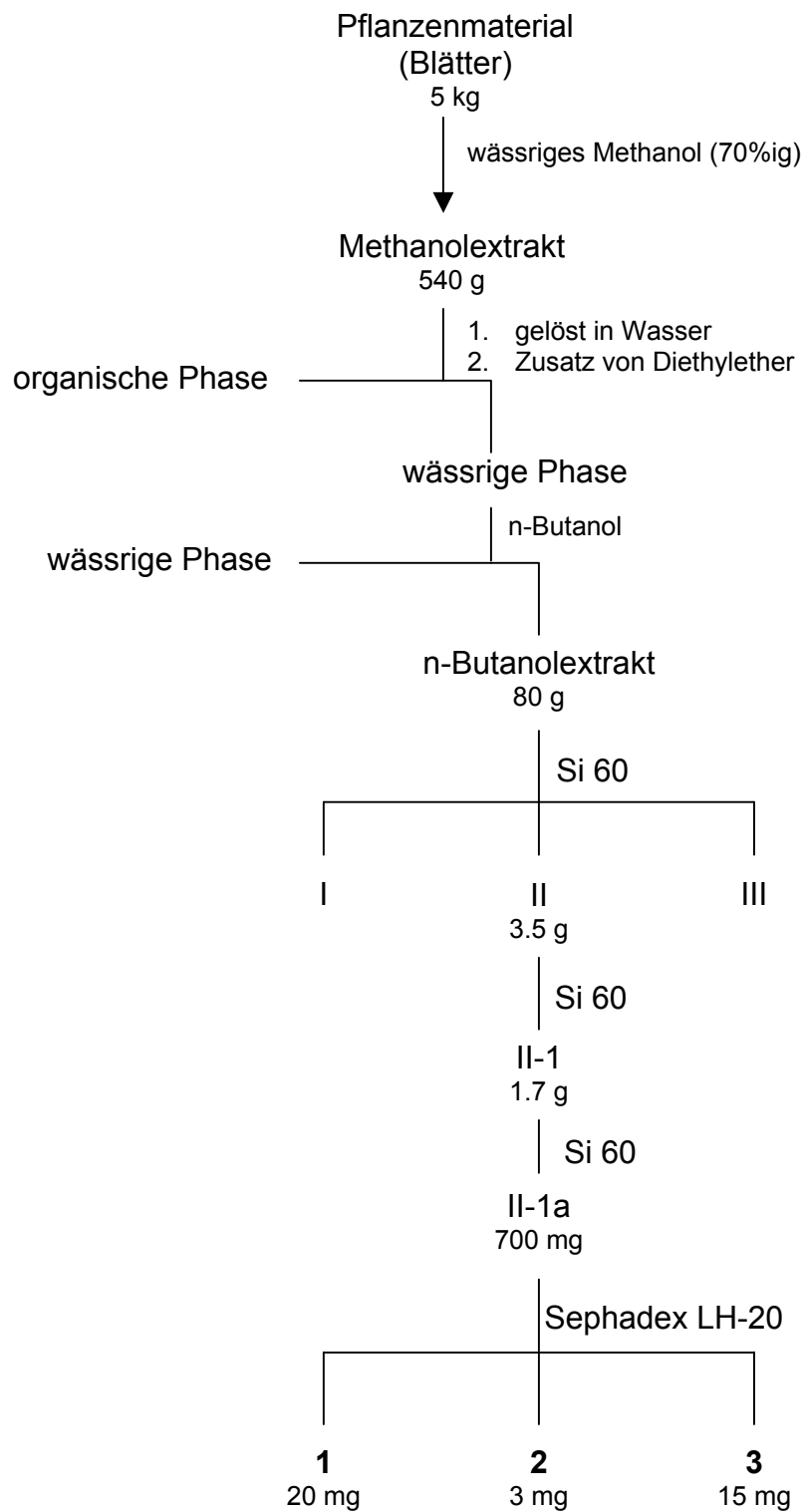
Zizyphus spina-christi (nebenstehendes Foto) gehört zur Pflanzenfamilie der Kreuzdorngewächse (Rhamnaceae), die in wärmeren und subtropischen Regionen weltweit verbreitet sind und ca. 58 Gattungen und mehr als 900 Arten umfasst [122-123]. Man nimmt an, dass die dornige Christus-Krone aus *Zizyphus spina-christi* gebunden wurde und bezeichnet deswegen diese Spezies auch als Christus-Dorn. Die belaubten strauchartigen Bäume, die 3 m groß werden können, haben sehr dornige Zweige mit glänzenden Blättern. Ihre grünlichen Blüten sind in Clustern angeordnet und geruchlos. Die essbaren Früchte sind süß und schmecken leicht nach Birne [124].



Die Blätter, Früchte und Rinde von *Zizyphus spina-christi* finden in der Volksmedizin vielseitige Anwendung. In Israel werden die Früchte bzw. der Sud der Früchte gegen Erkältung eingesetzt oder helfen beim Abnehmen. Blattextrakte senken den Blutdruck [125]. In der Volksmedizin in Saudi Arabien werden Blattextrakte z. B. zur Wundheilung, Behandlung von Hautproblemen, Fieber, Entzündungen, Tripper und Magengeschwüren eingesetzt. Der Sud der ausgekochten Rinde bzw. der frischen Früchte unterstützt die Heilung von frischen Wunden oder wird zum Reinigen des Körpers verwendet. Die Früchte hingegen werden bei Dysenterie eingesetzt. Sie helfen aber auch bei Bronchitis und Tuberkulose. Diese Anwendungsmöglichkeiten werden durch die antivirale, antifungale und antibakterielle Aktivität von *Zizyphus spina-christi* Extrakten bestätigt. Die Essigester-Fraktion der Früchte und die Wasserphase der Blätter zeigen signifikante antivirale Eigenschaften gegen *Herpes simplex* Typ 1 (HSV-1). Der Chloroformextrakt der Blätter hingegen weist hemmende und bakterielle Aktivität gegen Gram-positiv Mikroorganismen wie *Streptococcus pyogenes* und mäßige Aktivität gegen *Bacillus cereus* auf. Ebenso zeigt die Petroletherfraktion der Blätter eine hemmende Aktivität gegen *Streptococcus pyogenes*. Eine stark hemmende und bakterielle Aktivität gegen *Bacillus cereus* sowie einen hemmenden Effekt gegen *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus pyogenes* weist der Chloroformextrakt der Samen auf. Die Chloroformphase der Blätter besitzt eine starke Aktivität gegen den Pilz *Trichophyton rubrum* [126]. Des Weiteren wird der Rindenextrakt gegen Durchfall eingesetzt [127]. Im Yemen werden die Blätter als Antiseptikum verwendet [128].

Zizyphus spina-christi enthält die Saponine Christinin A, B, C und D [129]. Christinin A zeigt bei Ratten blutzuckerregulierende Eigenschaften, ähnlich wie Insulin [130-131]. Außerdem wurden die Flavonoide 3-O- β -D-Xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranosyl-4'-O- α -L-rhamnoypranosylquercetin, Rutin, Hyperin und Quercitrin gefunden [132].

Aufarbeitungsschema

Abb. 33: Aufarbeitungsschema von *Zizyphus spina-christi*

Strukturbestimmung

Das ^{13}C -NMR-Spektrum von Triterpensaponin **1** (Struktur von **1**, Abb. 35) lässt sich in drei Bereiche einteilen. Die Signale des Grundgerüsts des Triterpens liegen zwischen 16 – 58 ppm. Dieser überschneidet sich leicht mit dem direkt anschließenden sogenannten Zuckerbereich (Bereich 2) von 62 – 106 ppm. Die Tieffeldsignale von 111 – 136 ppm sind der Doppelbindung und dem Acetal zuzuordnen. Das C-3 Signal bei 89.4 ppm ist ein charakteristisches Merkmal für das Aglycon, da es bis auf die Signale der Doppelbindung und des Acetals am stärksten verschoben ist. Die Position 3 ist somit ein idealer Startpunkt zur weiteren Zuordnung der benachbarten Signale mithilfe des ^1H , ^1H -COSY- und des HMBC-Spektrums. Das H-3-Signal (δ 3.12 ppm) zeigt im ^1H , ^1H -COSY Crosspeaks zu den Resonanzen der Protonen an C-2 bei 1.81 und 1.65 ppm. Über das ^{13}C -NMR-Signal von C-3 können im HMBC-Spektrum die Protonen der Methylgruppen 28 (δ 0.97 ppm) und 29 (δ 0.79 ppm) identifiziert werden. Die ^1H -Signale der Methylgruppen weisen ihrerseits je vier Crosspeaks im HMBC-Experiment auf, die auf eine Kopplung mit C-4 (δ 40.5 ppm, ^2J -Kopplung), C-3, C-5 (δ 57.4 ppm) sowie C-28 (δ 28.3 ppm) bzw. C-29 (δ 17.0 ppm) hindeuten. Das C-5-Signal zeigt im HMBC-Spektrum einen Crosspeak mit der Resonanz der Protonen der Methylgruppe 19 (δ 0.87 ppm). Über das Protonensignal der Methylgruppe 19 erhält man wiederum die Signale von C-1 (δ 40.0 ppm), C-9 (δ 54.1 ppm) und C-10 (δ 38.3 ppm, ^2J -Kopplung). Die Lage der Protonen an C-6 (δ 1.53/1.46 ppm) wird durch die Crosspeaks im ^1H , ^1H -COSY-Spektrum mit H-5 bestätigt. Ausgehend vom HMBC-Experiment weisen die Protonen der Methylgruppe 18 (δ 1.11 ppm) vier Kreuzsignale zu C-9, C-7 (δ 36.8 ppm), C-8 (δ 38.5 ppm, ^2J -Kopplung), C-14 (δ 54.6 ppm) auf. Das Protonensignal von H-9 besitzt im ^1H , ^1H -COSY einen Crosspeak zu den beiden Methylenprotonen bei 1.61 bzw. 1.46 ppm an Position 11, welche wiederum eine Kopplung zu den zwei Protonen an C-12 (δ 1.83/1.64 ppm) zeigen. Die Lage des ^1H -NMR-Signals an C-13 (δ 2.47 ppm) wird durch die Crosspeaks mit der Resonanz der Protonen der Methylengruppe an C-12 und den Protonen an C-17 (δ 0.98 ppm) bestätigt. Außerdem zeigt H-13 im HMBC-Spektrum neben dem Crosspeak zu C-17 (δ 54.4 ppm) auch einen zu C-14 (δ 54.6 ppm). Ausgehend von den Protonen der Methylgruppe 21 (δ 1.12 ppm) erhält man im HMBC-Experiment Informationen über die Lage der ^{13}C -NMR-Signale von C-20 (δ 69.4 ppm) und C-22 (δ 45.4 ppm). Im ^1H , ^1H -COSY zeigen die Protonen an C-22

(δ 1.45/1.36 ppm) Crosspeaks zu dem tieffeldverschobenen Proton an C-23 (δ 4.67 ppm), das eine Kopplung zum Doppelbindungsproton an C-24 (δ 5.15 ppm) aufweist. Über das Signal von C-24 (δ 126.3 ppm) können im HMBC-Spektrum die Protonen der Methylgruppe 26 (δ 1.71 ppm) und 27 (δ 1.68 ppm) zugeordnet und daraus die Position von C-25 (δ 136.7 ppm) bestimmt werden. Das Signal des Acetalkohlenstoffes 16 liegt im ^{13}C -NMR-Spektrum bei 111.4 ppm, welches im HMBC-Experiment die Lage der Protonen an C-17, C-15 (δ 2.05/1.16 ppm) und der tieffeldverschobenen Protonen an C-30 (δ 4.00/3.91 ppm) festlegt. Die Zuordnung der zu den Protonen gehörenden Kohlenstoffatome erfolgt über das HMQC-Spektrum. Beim Aglycon der Verbindung **1** handelt es sich demnach um das von Christinin A [129] bekannte Jujubogenin, das zu den Dammaran Triterpenen gehört [133].

Die Zuckersignale konnten über die Kopplungskonstanten aus dem ^1H -NMR-Spektrum, sowie ^{13}C -NMR- und dem $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Experiment als α -Arabinopyranose, β -Glucopyranose und 6-Deoxy- α -talopyranose identifiziert werden. Die Konfiguration am anomeren C-Atom der 6-Deoxytalopyranose kann mittels $^1J_{\text{CH}}$ -Kopplungskonstante bestimmt werden [134]. Für das α -Anomer beträgt $^1J_{\text{CH}} = 169 - 175$ Hz und für das β -Anomer $^1J_{\text{CH}} = 158 - 162$ Hz. Die Verknüpfung der Zucker wurde über das HMBC-Spektrum festgelegt. Die α -Arabinopyranose ist in Position 3 an das Aglycon gebunden. Dies wird durch den Crosspeak des C-3-Signals mit dem Dublett des anomeren Protons H-1' (δ 4.40 ppm, d, $J_{1',2'}$ 6.6 Hz) der α -Arabinopyranose im HMBC-Spektrum bewiesen. Der HMBC-Crosspeak des anomeren Protons H-1'' (δ 4.46 ppm, d, $J_{1'',2''}$ 7.7 Hz) der β -Glucopyranose mit der C-3'-Resonanz (δ 84.3 ppm) zeigt, dass die β -Glucopyranose an die Position 3 der α -Arabinopyranose geknüpft ist. Die 6-Deoxy- α -talopyranose ist ebenfalls an die α -Arabinopyranose gebunden, wie der Crosspeak im HMBC-Spektrum zwischen dem anomeren Proton H-1''' (δ 5.48 ppm, s) und dem C-2'-Signal (δ 74.0 ppm) der α -Arabinopyranose beweist. Das FAB-Massenspektrum von **1** zeigt den um eine Masseneinheit erniedrigten Molekülionenpeak $[\text{M}-\text{H}]^-$ bei m/z 911.

Zur Überprüfung der Reihenzugehörigkeit der drei Monosaccharide in **1** wurde das Triterpensaponin sauer hydrolysiert und danach mit (*R*)-(-)-2-Butanol umgesetzt. Die (*R*)-2-Butylglycoside wurden trimethylsilyliert, durch GC untersucht und mit den

Retentionszeiten R_t der Referenzsubstanzen (*R*)-2-Butyl-D-arabinopyranosid, (*R*)-2-Butyl-L-arabinopyranosid, (*R*)-2-Butyl-D-glucopyranosid, (*R*)-2-Butyl-L-glucopyranosid und (*R*)-2-Butyl-6-deoxy-L-talopyranosid verglichen. Dabei zeigte sich, dass β -Glucose der D-Reihe und α -Arabinose und 6-Deoxy- α -talose der L-Reihe angehören.

Die Struktur des Dammaran-Saponins **1** kann somit als 3-O-[[6-Deoxy- α -L-talopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl}-jujubogenin angegeben werden und ist identisch mit Zizyphus saponin I aus den Früchten von *Zizyphus jujuba* [135] und den Blättern von *Zizyphus mauritiana* Lamk [136].

Synthese von 6-Deoxy-L-talopyranose

Als Ausgangsmaterial eignete sich L-Rhamnose, da es sich hierbei um das C-4 Epimer der 6-Deoxy-L-talopyranose handelt. Bevor die Konfiguration an C-4 invertiert werden konnte, mussten zunächst die restlichen OH-Gruppen mit Schutzgruppen versehen werden (Abb. 33). Durch Kochen unter Rückfluss mit Amberlite IR-120 (H^+) in Methanol wurde L-Rhamnose zunächst in das entsprechende Methylglycosid überführt. Die Reaktion lieferte die Diastereomeren Methyl- α/β -L-rhamnopyranosid mit 92% Ausbeute. Die Hydroxygruppen an C-2 und C-3 wurden mit einer Isopropylidengruppe geschützt. Dazu wurde Methyl- α/β -L-rhamnopyranosid in absolutem Aceton suspendiert, mit Dimethoxypropan versetzt, auf 0°C herabgekühlt und nach Zugabe von $BF_3 \cdot Et_2O$ für 30 Minuten gerührt. Anschließend wurde zum Vervollständigen der Reaktion auf Raumtemperatur erwärmt und für 20 h weiter gerührt. Die beiden Diastereomere konnten durch Flash-Chromatografie an Kieselgel getrennt werden und man erhielt Methyl-2,3-O-isopropyliden- α -L-rhamnopyranosid mit einer Ausbeute von 90% [137].

Um die Konfiguration an C-4 invertieren zu können musste die entsprechende Hydroxyfunktion zunächst oxidiert werden. Hierfür wurde Methyl-2,3-O-isopropyliden- α -L-rhamnopyranosid unter Schutzgasatmosphäre in absolutem DMSO und absolutem Pyridin vorgelegt, P_2O_5 schnell zugegeben und für 1,5 h bei 60°C gerührt (DC-Kontrolle). Danach wurde wieder auf Raumtemperatur abgekühlt und mit weiterem DMSO, Pyridin und P_2O_5 versetzt und wieder 1,5 h bei 60°C gerührt. Nachfolgende DC-Kontrolle zeigte zwar vollständigen Umsatz, aber auch bereits beginnende Zersetzung. Daher wurde die Reaktion schnell beendet und

aufgearbeitet. Nach Chromatografie erhielt man Methyl-6-deoxy-2,3-O-isopropyliden- α -L-lyxo-hexopyranosid-4-ulose mit einer Ausbeute von 15% [138-139].

Im nächsten Schritt musste die Carbonylfunktion an C-4 wieder reduziert werden. Dies erfolgte durch portionsweise Zugabe von NaBH_4 bei Raumtemperatur innerhalb von 10 Minuten zu Methyl-6-deoxy-2,3-O-isopropyliden- α -L-lyxo-hexopyranosid-4-ulose. Dies lieferte Methyl-6-deoxy-2,3-O-isopropyliden- α -L-talopyranosid mit einer Ausbeute von 56% [135].

Zum Schluss mussten nun die Schutzgruppen wieder abgespalten werden. Die Isopropylidengruppe wurde durch saure Hydrolyse mit 2 N HCl innerhalb von 2 h abgespalten. Die Methoxygruppe war unter diesen Bedingungen nicht abspaltbar, sie ist sowohl im ^1H -NMR (3.30 ppm) als auch im ^{13}C -NMR (55.3 ppm) leicht identifizierbar. Man erhielt Methyl-6-deoxy- α -L-talopyranosid mit 92% [135].

Für die Abspaltung der Methoxygruppe mussten drastischere Bedingungen gefunden werden. Zuerst wurde die Reaktion mit 2 N HCl mit einer Reaktionszeit von zwei Tagen wiederholt, wobei jedoch kein Umsatz erkennbar war. Danach wurde mit 6 N HCl und einer Reaktionszeit von zwei und fünf Tagen versucht, die Schutzgruppe abzuspalten. Auch hier war kein Umsatz feststellbar. Die Verwendung von konzentrierter HCl und eine Reaktionszeit von fünf Stunden, vier Tagen und zwei Tagen unter Rückfluss zeigte ebenfalls keinen Umsatz. Der Versuch mit BBr_3 führte zur vollständigen Zersetzung des Methyl-6-deoxy- α -L-talopyranosids. Ein weiterer Versuch der Entschützung stellte eine Umsetzung mit $\text{Ph}_3\text{C}^+ \text{BF}_4^-$ in Methylenchlorid bei Raumtemperatur für drei Tage dar [140]. Hier zeigte sich ebenfalls kein Umsatz. Daher wurde das Gemisch für vier Tage refluxiert. Dies lieferte, neben erheblicher Zersetzung, 6-Deoxy-L-talopyranosid mit einer Ausbeute von 72%. Der Vergleich des Drehwertes ($[\alpha]_D^{26} -19.1^\circ$, $c = 0.01$, H_2O) mit dem der Literatur ($[\alpha]_D -20.5^\circ$, $c = 2.28$, H_2O) bestätigt die Synthese des gewünschten Produkts [141].

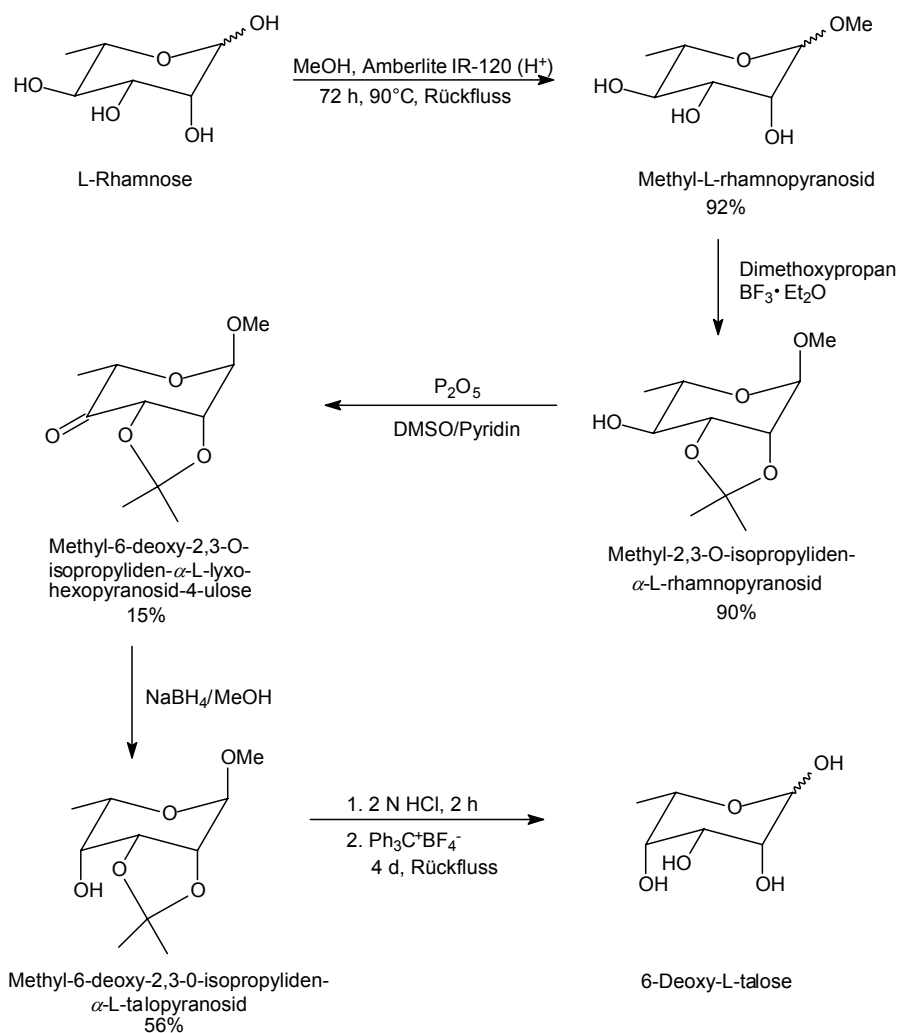


Abb. 34: Synthese von 6-Deoxy-L-talose aus L-Rhamnose

Der Vergleich der ^{13}C - und ^1H -NMR-Daten von Saponin **2** (Struktur von **2**, Abb. 35) mit **1** ergibt, dass als Aglycon ebenfalls Jujubogenin vorliegt (^{13}C - und ^1H -NMR-Daten s. Tab. 2). Im Zuckerbereich von **2** sind leichte Abweichungen zu den NMR-Daten der Verbindung **1** erkennbar. Das Vorliegen von drei Zuckereinheiten wird durch drei anomere Protonenresonanzen im ^1H -NMR-Spektrum bei δ 4.48 ppm (d, $J_{1',2'}$ 6.6 Hz), δ 4.49 ppm (d, $J_{1'',2''}$ 7.7 Hz) und δ 5.20 ppm (s) bestätigt. Mithilfe der Kopplungskonstanten $J_{1,2}$, ^1H , ^1H -COSY- und HMBC-Experimente konnten sie als α -Arabinopyranose, β -Glucopyranose und α -Rhamnopyranose bestimmt werden.

Die α -Arabinopyranose ist analog zu **1** an die Position 3 des Aglycons gebunden. Dies wird im HMBC-Spektrum durch den Crosspeak zwischen C-3 (δ 89.5 ppm) des Aglycons und H-1' (δ 4.48 ppm) der α -Arabinopyranose gezeigt. Die HMBC-Crosspeaks der Signale zwischen H-1'' (δ 4.49 ppm) der β -Glucopyranose mit C-3' (δ 82.1 ppm) der α -Arabinopyranose und H-1''' (δ 5.20 ppm) der α -Rhamnopyranose

mit C-2' (δ 75.7 ppm) der α -Arabinopyranose beweisen die interglycosidische Verknüpfung.

Das LSI-Massenspektrum von **2** weist das gleiche Molekölion $[M-H]^-$ m/z 911 wie **1** auf. Das Fragmentation m/z 749 $[M-H-162]^-$ zeigt die Abspaltung einer Hexose. Das Fragmentation m/z 603 $[M-H-162-146]^-$ beweist die Abspaltung einer Deoxyhexoseeinheit.

Die Untersuchung der Reihenzugehörigkeit führt zu dem Ergebnis, dass β -Glucopyranose der D-Reihe und α -Arabinopyranose und α -Rhamnopyranose der L-Reihe angehören.

Dies und der Vergleich der erhaltenen NMR-Daten mit den Literaturwerten [142] zeigt eine gute Übereinstimmung, so dass die Struktur von **2** 3-O- $\{[\alpha$ -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl}-jujubogenin ist. Saponin **2** ist aus den Blättern von *Hovenia dulcis* [142] und als Zizyphus saponin II aus den Früchten von *Zizyphus fructus* [135] bekannt.

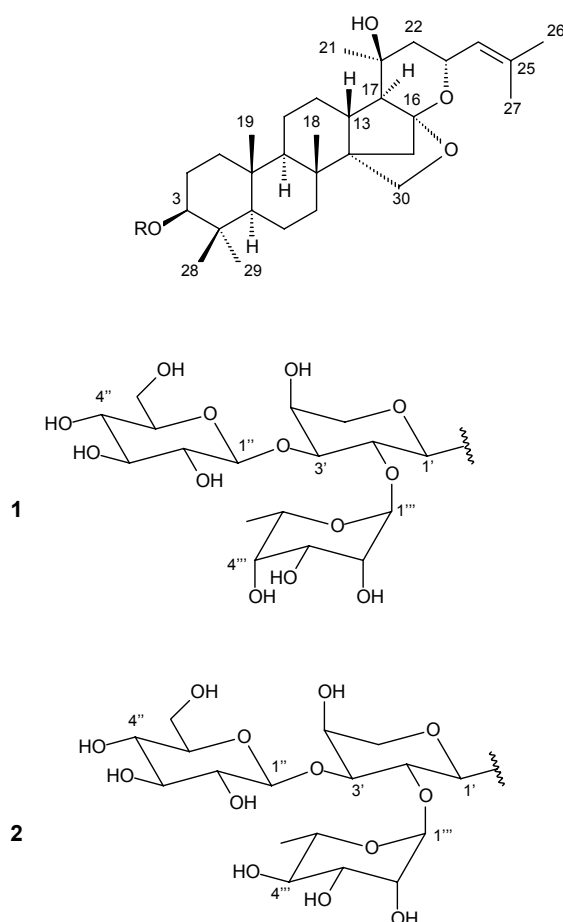


Abb. 35: Strukturen der aus *Zizyphus spina-christi* isolierten Saponine **1** und **2**

	1		2	
Position	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
1	1.67/0.93	40.0	1.67/0.95	40.0
2	1.81/1.65	27.4	1.81/1.67	27.3
3	3.12	89.4	3.12	89.5
4	-	40.5	-	40.6
5	0.72	57.4	0.74	57.4
6	1.53/1.46	19.1	1.57/1.51	19.1
7	1.52/1.44	36.8	1.54/1.46	36.8
8	-	38.5	-	38.5
9	0.86	54.1	0.89	54.1
10	-	38.3	-	38.3
11	1.61/1.46	22.5	1.64/1.48	22.5
12	1.83/1.64	29.2	1.85/1.66	29.2
13	2.47	38.0	2.47	38.1
14	-	54.6	-	54.8
15	2.05 d, 8.6 Hz 1.16	37.1	2.05 d, 8.9 Hz 1.17	37.1
16	-	111.4	-	111.7
17	0.98	54.4	1.00	54.2
18	1.11 s	19.1	1.13 s	19.2
19	0.87 s	16.7	0.87 s	16.7
20	-	69.4	-	69.8
21	1.12 s	29.8	1.14 s	29.8
22	1.45/1.36	45.4	1.47/1.38	45.4
23	4.67	69.7	4.67	69.7
24	5.15 d, 8.2 Hz	126.3	5.15 d, 7.8 Hz	126.3
25	-	136.7	-	136.7
26	1.71 s	25.8	1.71 s	25.8
27	1.68 s	18.2	1.68 s	18.1
28	0.97 s	28.3	1.00 s	28.2
29	0.79 s	17.0	0.84 s	16.8
30	4.00/3.91	66.8	4.02/3.93	66.9

Tab. 2: ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Aglycone der Saponine **1** und **2** in CD₃OD

	1			2	
Position	¹ H	¹³ C	Position	¹ H	¹³ C
Ara			Ara		
1'	4.40 d, 6.6 Hz	105.6	1'	4.48 d, 6.6 Hz	105.2
2'	3.92	74.0	2'	3.86	75.7
3'	3.83	83.4	3'	3.85	82.1
4'	4.03	69.3	4'	4.01	68.6
5'	3.87/3.50	65.8	5'	3.86/3.49	65.0
Glc			Glc		
1''	4.46 d, 7.7 Hz	104.9	1''	4.49 d, 7.7 Hz	104.3
2''	3.28	75.0	2''	3.28	75.7
3''	3.34	78.2	3''	3.34	77.9
4''	3.33	71.1	4''	3.33	71.5
5''	3.30	78.0	5''	3.31	78.0
6''	3.83/3.67	62.3	6''	3.83/3.67	62.4
6-Deoxytal			Rha		
1'''	5.48 s	101.9	1'''	5.20 s	102.0
2'''	3.78	72.0	2'''	3.90	72.1
3'''	3.78	67.1	3'''	3.70	72.1
4'''	3.54	74.4	4'''	3.38	73.8
5'''	4.24	65.8	5'''	3.85	70.1
6'''	1.18 d, 6.5 Hz	16.7	6'''	1.20 d, 6.2 Hz	17.7

Tab. 3: ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Trisaccharide der Saponine **1** und **2** in CD₃OD

Das ¹H-NMR-Spektrum der Verbindung **3** (Struktur von **3**, Abb. 36) zeigt vier Signale im „Aromatenbereich“, die für Flavonoide typisch sind. Die beiden meta-ständigen Protonen an C-6 (δ 6.20 ppm) und C-8 (δ 6.39 ppm) zeigen jeweils ein Dublett mit einer Kopplungskonstante von 1.8 Hz. Die beiden anderen Signale entsprechen den vier Protonen des Phenylringes an C-2. Sie stellen ein AA'BB'-Spinsystem dar, das für einen para-substituierten Aromaten typisch ist. Die *ortho*-Kopplung zwischen H-2' und H-3' bzw. H-5' und H-6' beträgt 8.8 Hz. Die Hydroxygruppe an Position 4' wird durch die Tieffeldverschiebung des C-4' Signals (δ 161.6 ppm) bestätigt. Das Disaccharid ist über β-Galactopyranose in Position 3 an das Aglycon gebunden. Dies wird durch den Crosspeak des Signals von C-3 (δ 135.7 ppm) mit dem Dublett des anomeren Protons (δ 5.03 ppm) der β-Galactopyranose im HMBC-Spektrum bewiesen. Der Crosspeak im HMBC-Experiment zwischen C-6'' Signal (δ 67.4 ppm)

der β -Galactopyranose und dem anomeren Proton (δ 4.51 ppm) der α -Rhamnopyranose zeigt die interglycosidische Verknüpfung ausgehend von C-6'' der β -Galactopyranose zu C-1''' der α -Rhamnopyranose.

Das Molekölion bei m/z 593 $[M-H]^-$ aus dem LSI-Massenspektrum und der Vergleich der NMR-Daten mit den Literaturwerten [144] bestätigt die Struktur von **3** als Kämpferol 3-O-robinobiosid (3-O- $[\alpha$ -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-galactopyranosyl]-kämpferol). Dieses Flavonglycosid wurde erstmals in *Strychnos variabilis* gefunden [145]. Kämpferol 3-O-robinobiosid hemmt *in vitro* die Proliferation von humanen Lymphocyten (IC_{50} = 25 μ g/mL) [146]. Aus *Zizyphus spina-christi* ist es nicht bekannt.

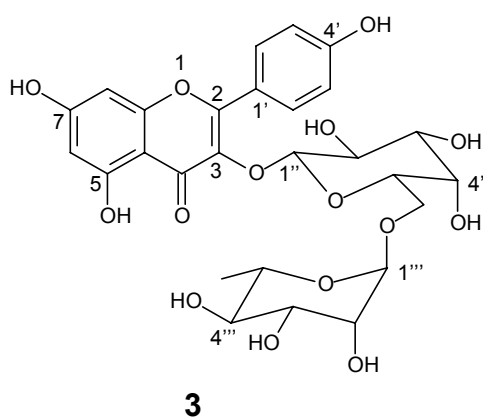


Abb. 36: Struktur des aus *Zizyphus spina-christi* isolierten Kämpferol 3-O-robinobiosids (**3**)

Position	^1H	^{13}C	Position	^1H	^{13}C
2	-	159.4	Gal		
3	-	135.7	1''	5.03 d, 7.8 Hz	105.6
4	-	179.6	2''	3.78	73.0
5	-	163.0	3''	3.53	75.1
6	6.20 d, 1.8 Hz	100.0	4''	3.76 dd, 3.29 Hz	70.1
7	-	166.2	5''	3.60	75.4
8	6.39 d, 1.8 Hz	94.9	6''	3.72 dd, 10.1/5.7 Hz 3.40	67.4
9	-	158.5			
10	-	105.6	Rha		
1'	-	122.6	1'''	4.51 s	101.9
2'	8.08 d, 8.8 Hz	132.5	2'''	3.58	72.1
3'	6.87 d, 8.8 Hz	116.1	3'''	3.50	72.3

4'	-	161.6	4'''	3.27	73.9
5'	6.87 d, 8.8 Hz	116.1	5'''	3.51	69.7
6'	8.08 d, 8.8 Hz	132.5	6'''	1.17 d, 6.2 Hz	18.0

Tab. 4: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von Kämpferol 3-O-robinobiosid (**3**) in CD_3OD

2.1.2 Zwei Pregnan-Derivate aus *Solenostemma argel*

Beschreibung

Die Familie der Seidenpflanzengewächse (Asclepiadaceae), zu der *Solenostemma argel* (Del.) Hayne (neben- und untenstehendes Foto) gehört, wird auch Schwalbenwurzgewächse genannt. Sie ist eine Unterfamilie der Hundsgiftgewächse (Apocynaceae) [146]. *Solenostemma argel* (Del.) Hayne ist ein 50-100 cm hoher, buschiger, belaubter Strauch, dessen kurze, schmale, lederne Blätter bläulich gefärbt sind. Die Pflanze besitzt sehr kleine grünlich-weiße Blüten, die sich als Cluster an den Zweigen



befinden. Die grün-braunen



Früchte sind tropfenförmig geformt und werden ca. 3-4 cm groß [147,148]. *Solenostemma argel* (Del.) Hayne wächst vor allem in den Wüsten von Ägypten, Arabien, Libyen, Tschad, Sudan und Palästina. Sie wird von den

Einheimischen auch „Aragal“ oder „El Arghel“ genannt und in der Volksmedizin oft eingesetzt. Der Aufguss der Blätter wird zur Behandlung von Magen-Darm-Krämpfen, Bauchschmerzen, Koliken, Erkältung und Harnentzündungen verwendet. Dieser Sud ist auch ein effektives Mittel gegen Syphilis. Zerkleinert werden die Blätter auf eitrige Wunden gegeben. Blattextrakte werden als Heilmittel bei Leber- und Nierenkrankheiten, Bronchitis sowie bei Allergien und Schmerzbehandlungen (Neuralgie, Ischias) eingesetzt. In Afrika werden die Blätter gegen alle entzündlichen Erkrankungen angewendet. Untersuchungen von Innocenti *et al.* zeigten, dass Blattextrakte eine hohe entzündungshemmende Wirkung aufweisen [22, 149].

Aus *Solenostemma argel* (Del.) Hayne sind bereits 14,15-Secopregnan-Derivate wie Argelosid C-J [150] und Pregnan-Glucoside wie beispielsweise Stemmosid E-K [151] bekannt, die eine antiproliferative Wirkung gegen Kaposi Sarkom Zellen aufweisen.

Strukturbestimmung

Das ^{13}C -NMR-Spektrum von Secopregnan **4** (Struktur von **4**, Abb. 37) lässt sich in drei Bereiche teilen. Die Hochfeldsignale sind dem steroidal Grundgerüst zuzuordnen. Daran schließen die Kohlenstoffatom-Resonanzen an, die mit einem Sauerstoffatom verknüpft sind und zwischen 71 – 77 ppm liegen. Im Bereich 3 befinden sich die Signale der Doppelbindung und zwei Signale der Ketale.

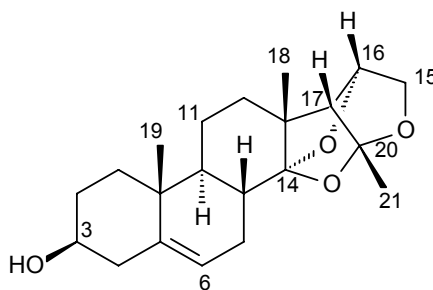
Ausgehend vom Signal der Protonen der Methylgruppe 19 (δ 0.99 ppm) können im HMBC-Experiment C-1 (δ 37.2 ppm), C-5 (δ 139.5 ppm), C-9 (δ 45.4 ppm) und C-10 (δ 36.3 ppm, ^2J -Kopplung) identifiziert werden. Das Proton an C-1 (δ 1.11 ppm) zeigt im $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Experiment einen Crosspeak mit dem Proton an C-2 (δ 1.48 ppm) und diese mit dem Proton an C-3 (δ 3.48 ppm). Die Verschiebung des C-3 Signals (δ 71.6 ppm) ist charakteristisch für eine Hydroxygruppe an dieser Position. Die Protonen an C-4 (δ 2.29/2.21 ppm) weisen im $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Spektrum Crosspeaks zu H-3 auf. Außerdem erhält man über die Protonensignale an C-4 im HMBC-Experiment die C-5 (^2J -Kopplung) und C-6 (δ 121.4 ppm) Resonanzen, welche die Doppelbindung zwischen C-5 und C-6 bestätigen. Im $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Spektrum erkennt man die Crosspeaks zwischen dem Proton an C-6 (δ 5.37 ppm) mit denen an C-7 (δ 2.18/2.09 ppm) und diese mit dem Proton an C-8 (δ 1.91 ppm). Dieses wiederum zeigt zwei schwache HMBC-Signale mit C-14 (δ 109.1 ppm, ^2J -Kopplung) und C-9 (δ 45.4 ppm, ^2J -Kopplung). Letzteres weist im $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Spektrum Crosspeaks zu den Protonen an C-11 (δ 1.58/1.52 ppm) auf und diese zeigen Crosspeaks zu den Protonen an C-12 (δ 1.64/1.48 ppm). Die Position der Methylgruppe 18 wird durch vier Crosspeaks zu C-12 (δ 30.3 ppm), C-13 (δ 48.8 ppm, ^2J -Kopplung), C-14 und C-17 (δ 57.8 ppm) im HMBC-Experiment bewiesen. Die Protonen der Methylgruppe 21 (δ 1.66 ppm) weisen im HMBC-Spektrum Crosspeaks zu C-20 (δ 113.4 ppm, ^2J -Kopplung) und C-17 (^2J -Kopplung) auf. Über das Protonensignal von H-17 (δ 2.35 ppm) gelangt man zu C-14 (δ 109.1 ppm) und C-16 (δ 76.8 ppm). Die Tieffeldverschiebung der C-14 Resonanz ist charakteristisch für ein Ketal. Das HMBC-Signal zwischen dem Proton von C-16 (δ 4.48 ppm) und C-14 sowie die Verschiebung von

C-16 beweisen, dass C-16 und C-14 durch ein Sauerstoffatom miteinander verbunden sind. Die tieffeldverschobenen Protonen an C-15 (δ 3.95/3.82 ppm) und die Resonanz von C-20 weisen ebenfalls auf eine Sauerstoffbrücke zwischen C-15 und C-20 hin, wobei C-20 ein Ketal-Kohlenstoffatom ist. Der Tetrahydrofuranring wird durch die HMBC-Crosspeaks zwischen den Protonen an C-15 mit C-20, C-17 und C-16 bewiesen.

Die Stereochemie von **4** wird durch ein ROESY Experiment bestimmt. Die NOEs zwischen dem Proton an C-8 und den Protonen der Methylgruppen 19 und 18 bestätigen die β -Konfiguration des Protons an C-8 und der beiden Methylgruppen 19 und 18. Letztere zeigt einen ROESY Crosspeak zu den Protonen der Methylgruppe 21. Diese wiederum NOEs zu den Protonen an C-17 und an C-16. Dies beweist, dass die Methylgruppe 21 und die Protonen an C-17 und C-16 β -konfiguriert sind und der verknüpfende Sauerstoff zwischen Position 16 und 14 auf der α -Seite liegt.

Aus dem ESI-MS (m/z 369 $[M+Na]^+$) ergibt sich für **4** eine Molekülmasse von 346.

Die Struktur des Pregnan-Derivates lässt sich als (14*S*,16*S*,20*R*)-14,16-14,20-15,20-Triepoxy-14,15-secopregn-5-en-3 β -ol angeben und ist somit das Aglycon der aus *Solenostemma argel* isolierten Argeloside A-J [150].



4

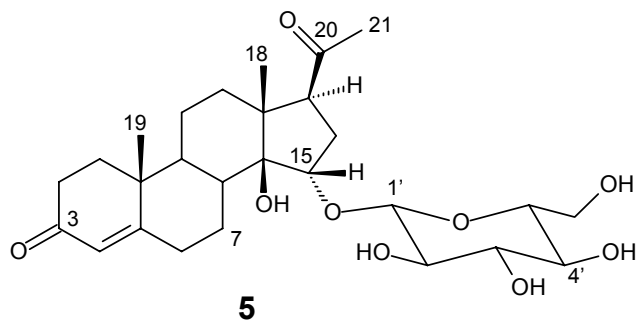
Abb. 37: Struktur des aus *Solenostemma argel* isolierten Pregnan-Derivates **4**

Position	^1H	^{13}C	Position	^1H	^{13}C
1	1.83/1.11	37.2	12	1.64/1.48	30.3
2	1.82/1.48	31.6	13	-	48.8
3	3.48	71.6	14	-	109.1
4	2.29 2.21	42.2	15	3.95 d, 9.6 Hz 3.82 d, 9.6 Hz	71.2
5	-	139.5	16	4.48	76.8

6	5.37	121.4	17	2.35 d, 2.6 Hz	57.8
7	2.18/2.09	24.8	18	1.15 s	15.6
8	1.91	30.8	19	0.99 s	19.2
9	1.49	45.4	20	-	113.4
10	-	36.3	21	1.66 s	23.5
11	1.58/1.52	19.8			

Tab. 5: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (14*S*,16*S*,20*R*)-14,16-14,20-15,20-Triepoxy-14,15-secopregn-5-en-3 β -ol (**4**) in CDCl_3

Das ^{13}C -NMR-Spektrum von **5** (Struktur von **5**, Abb. 38) kann in drei Bereiche eingeteilt werden. Im ersten Bereich befinden sich Signale, die dem steroidal Grundgerüst zugeordnet werden können. Dieser überschneidet sich geringfügig mit dem darauffolgenden „Zuckerbereich“. Die Signale der Doppelbindung und die zwei der Carbonylatome liegen im Bereich 3. Die HMBC-Crosspeaks des Protons an C-4 (δ 5.70 ppm) zu den Kohlenstoffresonanzen C-10 (δ 40.2 ppm), C-6 (δ 34.7 ppm) und C-2 (δ 34.7 ppm) sowie von C-5 (δ 175.2 ppm) zu den Protonen der Methylgruppe 19 (δ 1.21 ppm) belegen die Doppelbindung zwischen Position 4 und 5. Die Carbonylfunktion an Position 3 wird durch die Crosspeaks zwischen C-3 (δ 202.4 ppm) und den Protonen an C-1 (δ 2.06/1.79 ppm) und an C-2 (δ 2.44 ppm) bestätigt. An Position 17 ist das Methylketon gebunden. Dies beweisen die Signale der Protonen der Methylgruppe 21 (δ 2.25 ppm) mit dem tieffeldverschobenen C-17 (δ 61.3 ppm) und C-20 (δ 216.2 ppm) im HMBC-Spektrum. Die Tieffeldverschiebungen der Signale C-14 (δ 83.6 ppm) und C-15 (δ 78.3 ppm) zeigen das Vorhandensein einer Hydroxyfunktion in Position 14 und einer β -glycosidisch verknüpften Monosaccharideinheit in Position 15, welche durch den Crosspeak des C-15 mit dem Dublett des anomeren Protons des Zuckers (δ 4.27 ppm) im HMBC-Experiment bestätigt wird. Anhand der $J_{1',2'}$ -Kopplungskonstante, ^1H , ^1H -COSY- und HMBC-Spektren wurde das Monosaccharid als β -Glucopyranose identifiziert. Das ESI-Massenspektrum von **5** zeigt das Molekülion $[\text{M}+\text{Na}]^+$ bei m/z 531. Der weitere Vergleich der NMR-Daten und des Drehwertes mit den Literaturwerten bestätigt die Struktur des bereits aus den Blättern von *Solenostemma argel* isolierten Stemmosids A [152].

Abb. 38: Struktur des aus *Solenostemma argel* isolierten Stemmosids A (**5**)

Position	¹ H	¹³ C	Position	¹ H	¹³ C
1	2.06/1.79	36.7	17	2.72	61.3
2	2.44/2.28	34.7	18	1.03 s	16.5
3	-	202.4	19	1.21 s	18.4
4	5.70 s	123.7	20	-	216.2
5	-	175.2	21	2.25 s	31.7
6	2.31	34.7			
7	2.06/1.77	28.0	Glc		
8	1.77	42.4	1'	4.27 d, 7.7 Hz	101.4
9	1.47	49.5	2'	3.15	75.4
10	-	40.2	3'	3.33	78.6
11	1.54/1.45	22.0	4'	3.18	71.7
12	1.61/1.53	39.7	5'	3.23	78.4
13	-	49.0	6'	3.85 dd, 11.4/2.0 Hz 3.54	63.2
14	-	83.6			
15	4.84	78.3			
16	2.40/2.00	30.7			

Tab. 6: ¹H- und ¹³C-NMR-Daten von Stemmosid A (**5**) in CD₃OD

2.2 Untersuchung von marinen Organismen

Die Alge *Enteromorpha flexuosa* (Wulfen) J. Agardh wurde in Ägypten von Marsa Alam gesammelt und von Dr. R. A. Salah El Din (Al-Azhar Universität) identifiziert. Die aus Ägypten stammenden Korallen *Nephthea* sp., *Sarcophyton trocheliophorum*, *Sarcophyton* sp., *Sarcophyton glaucum* und *Sinularia polydactyla* wurden von Dr. Hesham Soliman (King Khaled Universität, Saudi Arabien) gesammelt. Die Identifizierung von *Sarcophyton trocheliophorum* und *Sinularia polydactyla* führte Dr. T. Temraz (Marine Science Departement, Suez Canal University, Ägypten) durch, die von *Nephthea* sp. und *Sarcophyton glaucum* Dr. M. Hamza (Suez Canal University, Institute of Oceanography and Fisheries, Ismailia, Ägypten) und die von *Sarcophyton* sp. Mr. M. Hegazi. Der Schwamm *Desmacidon tubular* und die Korallen *Palythoa* sp., *Sarcophyton tenuispiculatum*, *Litophyton arboreum*, *Sinularia asterolobata* und *Dendronephthya rubeola*, die aus Indonesien stammen, wurden von F. Pfeifer (Bayreuth) identifiziert.

Zur Aufarbeitung wurden der frische Schwamm bzw. die frischen Korallen zerkleinert und mit Ethanol bzw. Methanol dreimal bei Raumtemperatur extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden bis zur Trockene eingeeengt. Der erhaltene Rohextrakt wurde entweder sofort zur Untersuchung auf eine Kieselgelsäule gegeben oder mit Wasser aufgenommen mit n-Hexan oder Methylenchlorid ausgeschüttelt und die erhaltene organische Phase chromatografiert. Die Aufarbeitung des ägyptischen Korallenmaterials wurde von Dr. Hesham Soliman und Dr. Kamel Shaker durchgeführt. Zur Untersuchung der Inhaltsstoffe diente die Säulenchromatografie an Kieselgel oder Sephadex LH-20, sowie die präparative Dünnschichtchromatografie an Kieselgel oder RP-18.

Die Alge wurde mit Seewasser gesäubert, gewaschen, bei Raumtemperatur getrocknet, anschließend zu einem Pulver gemahlen und mit Essigester extrahiert. Der Rohextrakt wurde ebenfalls durch Säulenchromatografie aufgereinigt.

2.2.1 Sterole und Palmitinsäure aus der Alge *Enteromorpha flexuosa*

Beschreibung

Enteromorpha flexuosa (Wulfen) J. Agardh (untenstehendes Foto) ist eine Grünalge (Chlorophyceae) und gehört zur Familie Ulvaceae [153, 157 (Foto)]. *Enteromorpha* wird auch Darmtang genannt. Die grüne, durchscheinende Alge hat einen zweischichtigen Körper, in dem Gas eingeschlossen sein kann. Dadurch erhält sie ein schlauchförmiges, röhrenförmiges oder höhlenähnliches Aussehen, das an einen Darm erinnert. Sie wächst in Küstennähe als Cluster auf Holz, Wurzeln, Steinen, Sand und wird ca. 20 cm lang. Sie ist vor allem in Gebieten mit Frisch-Wasser Zuströmung und hohen Nährstoffgehalt weltweit zu finden. Der Darmtang ist sehr widerstandsfähig und überlebt stark schwankende Lebensbedingungen wie Frost oder Sonne. Nach Austrocknung erholt er sich sehr viel schneller als andere Algen [154]. Das besondere an *Enteromorpha flexuosa* (Wulfen) J. Agardh ist, dass sie vergleichsweise hohe Schwermetall-Konzentrationen toleriert. Sie wird daher als Biomonitor für Schwermetall-Verseuchung in Küstengewässern verwendet [155].



Algen fungieren durch ihre Photosynthese als Sauerstoffhersteller und Erstproduzenten des Ökosystems „Riff“. Sie stellen die unentbehrliche Verbindung zwischen der Sonnenenergie, anorganischen Stoffen und der organischen Nahrungsquelle dar, die grundlegend für die Konsumenten im Riff sind [156].

Die zu untersuchende Alge *Enteromorpha flexuosa* (Wulfen) J. Agardh wurde im Roten Meer, Ägypten im April 2002 gesammelt.

Aufarbeitungsschema

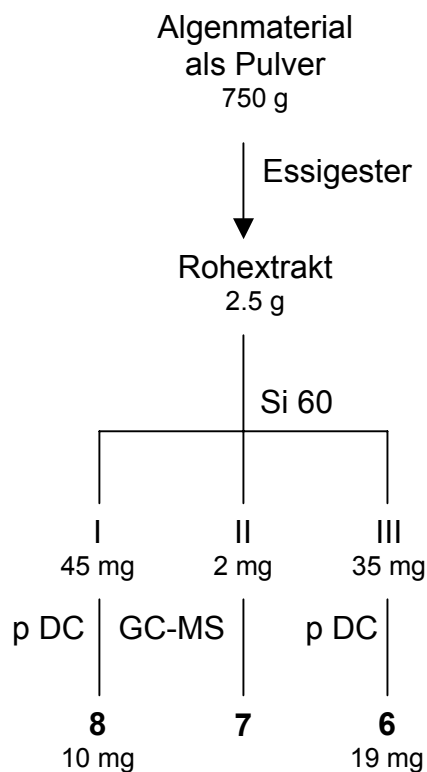


Abb. 39: Aufarbeitungsschema von *Enteromorpha flexuosa*

Strukturbestimmung

Die ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren von **6** lassen sich in zwei Bereiche unterteilen. Zum einen sind Signale erkennbar, die ein steroidales Grundgerüst mit einer hydroxylierten Methingruppe charakterisieren. Auf der anderen Seite sind Signale, die einer Doppelbindung zugeordnet werden können. Zusammen mit den Informationen aus den ^1H , ^1H -COSY- und HMBC-Experimenten ergibt sich daraus das Δ^5 -Sterol β -Sitosterol [158]. Dies wurde durch das Moleküllion m/z 414 und den Vergleich der MS-Daten mit denen einer MS-Datenbank bestätigt.

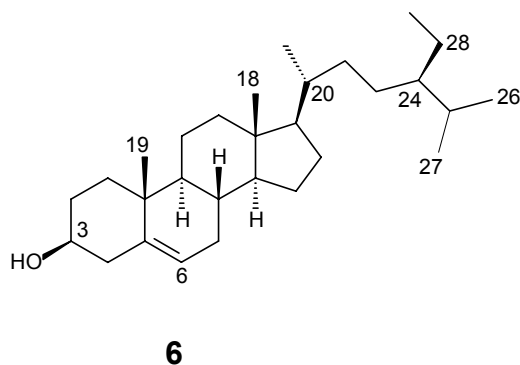


Abb. 40: Struktur des aus *Enteromorpha flexuosa* isolierten β -Sitosterols (**6**)

Position	^1H	^{13}C	Position	^1H	^{13}C
1	1.83/1.07	38.6	16	1.82/1.25	29.6
2	1.81/1.48	33.0	17	1.09	57.4
3	3.49	73.2	18	0.66 s	13.2
4	2.24	43.7	19	0.99 s	20.7
5	-	142.1	20	1.34	37.6
6	5.33	123.1	21	0.91	20.2
7	1.95/1.51	33.2	22	1.36/0.96	35.3
8	1.45	33.2	23	1.31/1.03	27.8
9	0.93	51.1	24	0.92	47.5
10	-	37.9	25	1.66	30.4
11	1.48	22.5	26	0.80	20.3
12	2.00/1.15	41.2	27	0.82	20.9
13	-	40.9	28	1.32/1.12	24.4
14	0.97	58.2	29	0.85	13.6
15	1.56/1.07	25.7			

Tab. 7: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von β -Sitosterol (**6**) in CDCl_3

Vergleicht man die ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren von **6** mit **7** zeigt sich, dass es sich bei **7** ebenfalls um ein Steroid handelt. Auffallend ist allerdings, dass die Resonanz von C-5 bei 166.4 ppm und das Protonensignal der Doppelbindung an C-6 bei 5.67 ppm ist. Nachdem nur 2 mg von **7** vorhanden waren und deswegen die 2D-NMR-Daten nicht zur vollständigen Zuordnung ausreichten, wurde die Probe trimethylsilyliert und mithilfe von GC-MS untersucht. Letzteres ergab neben unidentifizierbaren leichten Verunreinigungen 7-Oxocholesterol.

Das ^{13}C -NMR-Spektrum von **8** weist zwei Bereiche auf. Bei den Hochfeldsignalen handelt es sich um eine Methylgruppe und mehrere Methylengruppen. Das Signal bei 179.5 ppm lässt sich einem Carboxyl-Kohlenstoffatom einer freien Säuregruppe zuordnen. Das Massenspektrum zeigt ein Molekölion bei m/z 256. Diese Daten zusammen mit dem Vergleich des Massenspektrums mit der Datenbank ergeben Palmitinsäure.

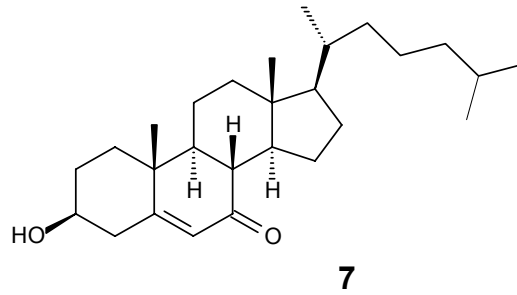
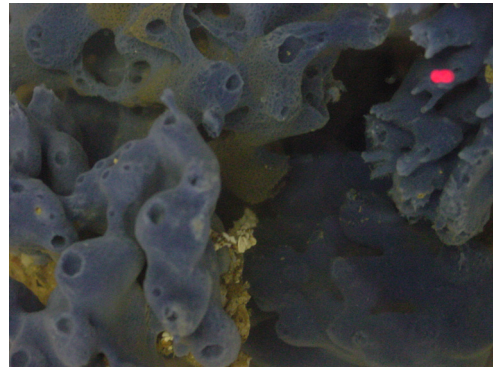


Abb. 41: Struktur des aus *Enteromorpha flexuosa* isolierten 7-Oxocholesteroles (**7**)

2.2.2 Sterole aus dem Schwamm *Desmacidon tubular*

Beschreibung

Der blaue Schwamm *Desmacidon tubular* (nebenstehendes Foto) gehört der Familie Desmacididae an. Er besteht aus aneinander gereihten Röhren, durch die er das Wasser filtert. Der in dieser Arbeit untersuchte Schwamm *Desmacidon tubular* wurde vor Bali, Indonesien in Tiefen von 10-15 m im Mai 2001



gesammelt. *Desmacidon tubular* wurde bis heute noch nicht auf Inhaltsstoffe untersucht.

Aufarbeitungsschema

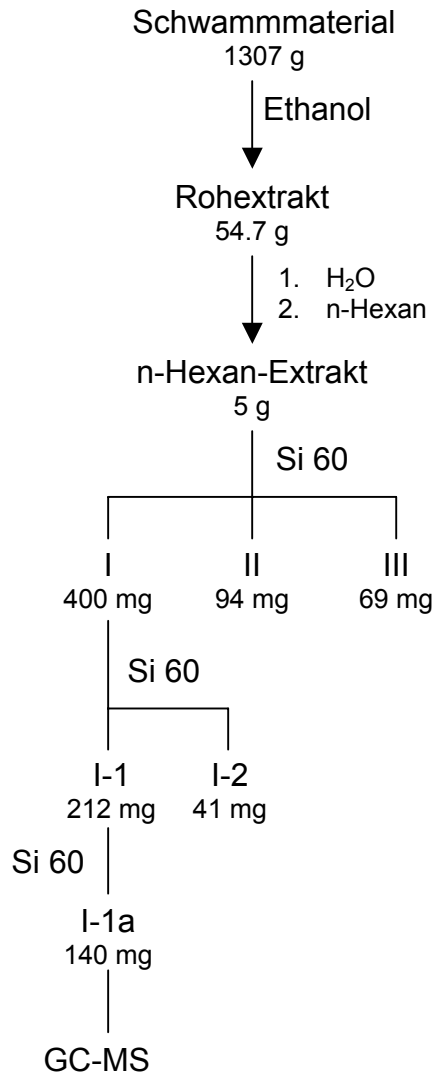
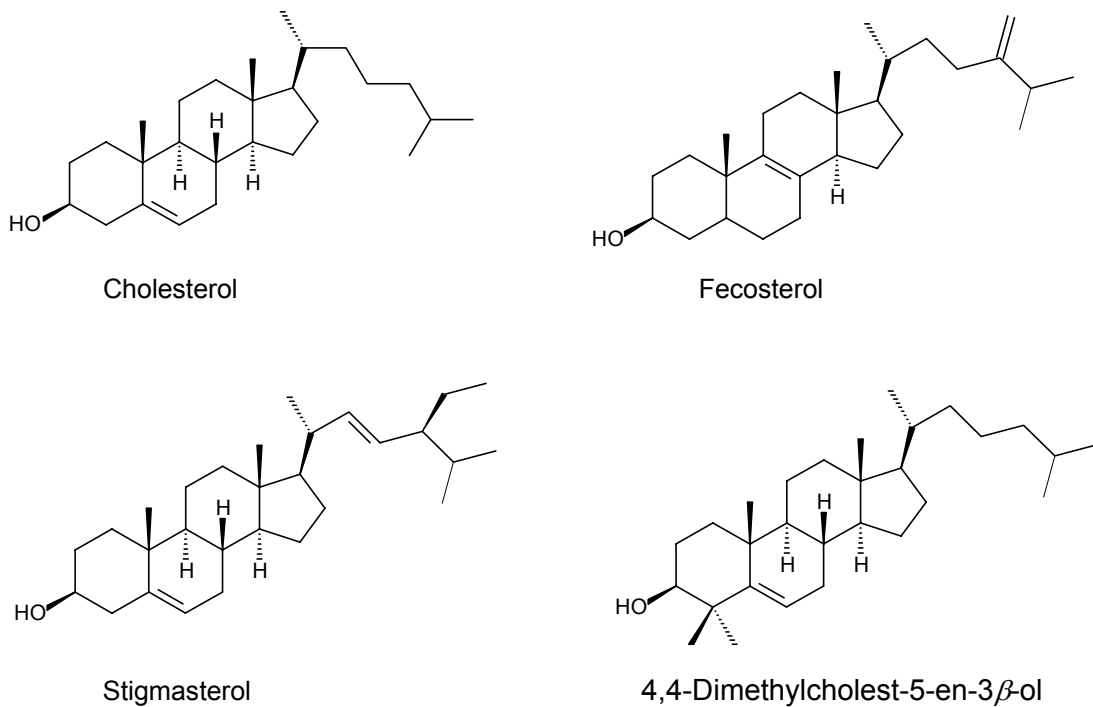


Abb. 42: Aufarbeitungsschema von *Desmacidon tubular*

Strukturbestimmung

Im ¹H-NMR-Spektrum von Fraktion I-1a erkennt man typische Signale für ein steroidales Grundgerüst, das hydroxyliert ist und Doppelbindungsprotonen aufweist. Das ¹³C-NMR-Experiment zeigt, dass es sich um ein Gemisch aus Steroiden handeln muss. Deshalb wurde die Charakterisierung nach Trimethylsilylierung mittels GC-MS durchgeführt. Dies ergab 4 Hauptkomponenten: Trimethylsilylcholesterol (C₃₀H₅₄OSi, m/z 458), Trimethylsilylfecosterol (C₃₁H₅₄OSi, m/z 470), Trimethylsilylstigmasterol (C₃₂H₅₆OSi, m/z 484) und 3β-Trimethylsilyloxy-4,4-dimethylcholest-5-en (C₃₂H₅₈OSi, m/z 486).

Abb. 43: Strukturen der aus *Desmacidon tubular* isolierten Sterole

2.2.3 Zwei Sterole aus der Koralle *Palythoa* sp.

Beschreibung

Zu den Krustenanemonen (Zoantharia) gehört die Familie Zoanthidae in die *Palythoa* sp. eingeordnet wird [159]. *Palythoa* sp. besteht aus einem Stamm, der sich mit einem Fuß fest auf dem Untergrund verankert. Die darauf sitzende Mundscheibe hat im Zentrum eine spaltförmige Mundöffnung, die sich farblich von der übrigen Mundscheibe abhebt. Das verleiht den Mundscheiben der einzelnen Polypen fast etwas Ähnlichkeit mit Blumen auf einer Wiese. Am Rand dieser Mundscheibe befinden sich kurze und spitze Tentakeln. Fallen z. B. Futterbrocken auf diese Kolonien herab, schließen diejenigen Polypen, die etwas von der Beute erhaschen können, rasch ihre Mundscheiben und ergreifen die Nahrung. Die Futterbrocken werden zum Verdauen durch die Mundöffnung in den Schlund geführt und innerhalb von wenigen Minuten sind die Mundscheiben wieder voll geöffnet, um neue Beute aufzunehmen [160]. Die Krustenanemonen besiedeln fast alle organischen und

anorganischen Unterlagen und bilden eine sog. Kruste, die wie eine Matte bzw. Teppich aussieht und bis ca. 30 cm groß wird [159]. Diese Kruste, auch Coenchym genannt, hat dieser Spezies den Namen gegeben [161]. Sie kann sehr dünn sein und „nur“ zur Verbindung der einzelnen Polypen dienen, oder dick ausfallen, sodass die Polypen fast vollständig in ihr eingebettet werden. *Palythoa* sp. findet man z. B. im Indopazifik, karibischen Meer, an den Küsten von Australien, Florida und den Bermudas [159]. Sie besiedeln dort unter anderem Riffdächer dicht unter der Wasseroberfläche oder felsige Steinküsten. Ihre Farbgebung ist meistens braun, grün bis gelb, die sie durch die Symbiosealgen erhalten. Interessant ist noch, dass die Krustenanemonen wie die Anemonen keine Skelettstrukturen besitzen [161]. Allerdings bauen viele Arten während ihres Wachstums Sedimente wie z. B. Sand ein, die als Stützung wirken.

Die bekannteste Verbindung aus der Familie *Palythoa* ist das Kontaktgift Palytoxin [161]. Es stellt neben Botulinus- und Tetanustoxin eines der stärksten natürlichen Gifte der Welt dar. Der LD₅₀-Wert beträgt 0.15 µg/kg bei Mäusen [162-163]. Palytoxin ist um das 50-fache giftiger als das Nervengift Tetrodotoxin, das aus dem japanischen Kugelfisch bekannt ist. Bei Kontakt mit Palytoxin wird die Zellmembran zerstört, so dass der normale osmotische Druck innerhalb der Zellen der betroffenen Beute zusammenbricht. Der Grund dafür ist, dass Palytoxin die Kationen-durchlässigkeit der Zellmembran erhöht und gleichzeitig die Na⁺,K⁺-ATPase hemmt [164]. Des Weiteren ist Palytoxin hämolytisch [165] und wirkt koronarkontrahierend [166]. Die hawaiianischen Ureinwohner verwendeten palytoxinhaltige *Palythoa*-Extrakte („lima-make-o-Hana“, tödliche Seepflanze aus Hana) als Pfeilgifte [166].

Die zu untersuchende braun-lila farbige *Palythoa* sp. wurde im Mai 2001 in Tiefen von 10-15 m an der Küste vor Bali, Indonesien gesammelt. Wie man auf dem Foto (Abb. 44) erkennen kann, schließen sich die Mundscheiben sofort, wenn sie aus dem Wasser genommen werden. Legt man sie wieder zurück, öffnen sie sich nach wenigen Minuten wieder.

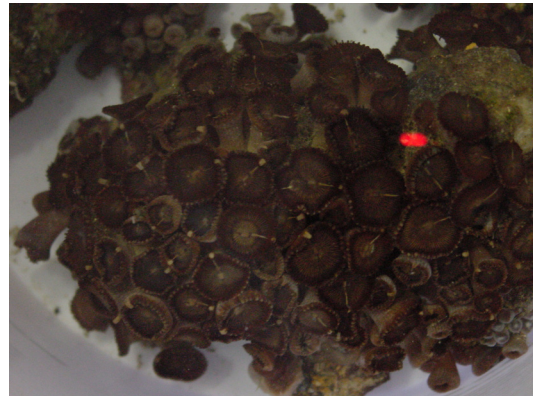


Abb. 44: *Palythoa* sp. mit geschlossen und im Wasser offenen Mundscheiben

Aufarbeitungsschema

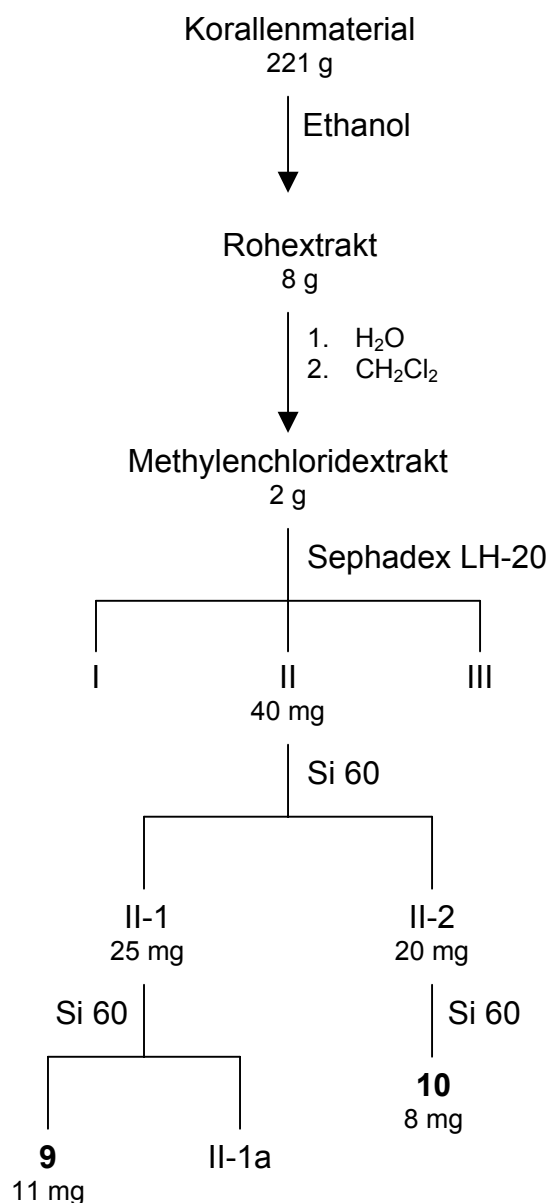


Abb. 45: Aufarbeitungsschema von *Palythoa* sp.

Strukturbestimmung

^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren der Verbindung **9** deuten auf ein Steroidgerüst mit einer Doppelbindung hin. Mithilfe von 2D-NMR-Experimenten und einem Massenspektrum konnte 24 ξ -Methylcholesterol identifiziert werden. Es ist bekannt, dass *Palythoa* sp. Sterole wie 24 ξ -Methylcholesterol enthält [167-168].

Die spektralen Daten von **10** ergeben, dass diese Verbindung ein Sauerstoffatom mehr besitzt als **9**. Die Auswertung zeigt, dass die Position 7 hydroxyliert ist. Die Konfiguration der Hydroxygruppe an C-7 kann durch den Vergleich der ^{13}C -

Resonanzen von 7α -Hydroxycholesterol (C-7: δ 65.3 ppm) und 7β -Hydroxycholesterol (C-7: δ 73.3 ppm) festgelegt werden [169]. Das Signal von C-7 (δ 65.4 ppm) belegt, dass es sich um 7α -Hydroxy-24 ξ -methylcholesterol handelt, das bisher noch nicht aus einer *Palythoa* sp. isoliert wurde.

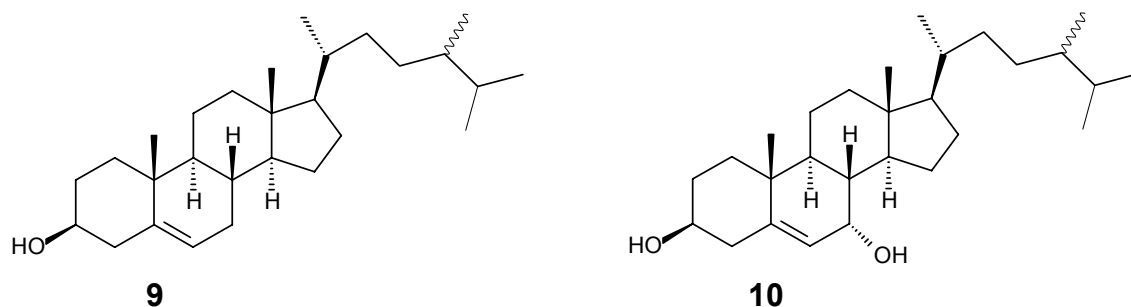


Abb. 46: Strukturen des aus *Palythoa* sp. isolierten 24 ξ -Methylcholesterols (**9**) und 7α -Hydroxy-24 ξ -methylcholesterols (**10**)

	9		10	
Position	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
1	1.83/1.07	37.2	1.84/1.11	37.0
2	1.82/1.54	31.7	1.83/1.51	31.4
3	3.50	71.8	3.57	71.4
4	2.24	42.3	2.33/2.26	42.0
5	-	140.8	-	146.2
6	5.34	121.7	5.59	123.9
7	1.96/1.50	32.0	3.84	65.4
8	1.48	32.0	1.45	37.5
9	0.92	50.1	1.22	42.3
10	-	36.5	-	37.0
11	1.49/1.47	21.1	1.52/1.49	20.7
12	1.99/1.15	39.8	1.99/1.17	39.2
13	-	42.4	-	42.0
14	0.99	56.7	1.43	49.4
15	1.57/1.06	24.3	1.71/1.12	24.3
16	1.83/1.26	28.2	1.88/1.30	28.2
17	1.09	56.0	1.18	55.6
18	0.66 s	11.9	0.68 s	11.6
19	0.99 s	19.4	0.99 s	18.2
20	1.35	36.1	1.37	36.1
21	0.91	18.9	0.92	18.9

22	1.38/0.94	33.7	1.39/0.96	33.7
23	1.38/0.94	30.6	1.37/0.94	30.4
24	1.18	39.1	1.15	39.1
25	1.52	31.9	1.54	31.5
26	0.77	17.6	0.78	17.6
27	0.84	20.5	0.84	20.5
28	0.76	15.4	0.75	15.5

Tab. 8: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von 24 ξ -Methylcholesterol (**9**) und 7 α -Hydroxy-24 ξ -methylcholesterol (**10**) in CDCl_3

2.2.4 Zwei Sterole aus der Koralle *Sarcophyton tenuispiculatum*

Beschreibung

Lederkorallen der Gattung *Sarcophyton* haben zahllose lange dünne Polypen, die in der Wasserströmung langsam hin- und herwiegen. Wenn sie sich vollständig öffnen, entsteht am Ende jedes Polypen eine winzige Krone aus acht Tentakeln, die einer kleinen Blüte gleicht. Diese achttentakeligen Polypen werden auch als Autozooiden bezeichnet, die für die Nahrungsbeschaffung zuständig sind. Bei genauerer Betrachtung erkennt man zwischen den langen Polypen noch andere Polypen, die nicht ausgestreckt werden können. Diese nur als Punkte sichtbaren Kurzpolypen, die man als Siphonozoiden bezeichnet, dienen dem Gasaustausch der Koralle und somit dem Wassertransport im Inneren. Die Gattung *Sarcophyton* wird auf Grund der zwei unterschiedlichen geformten Polypenarten als dimorph bezeichnet [170].

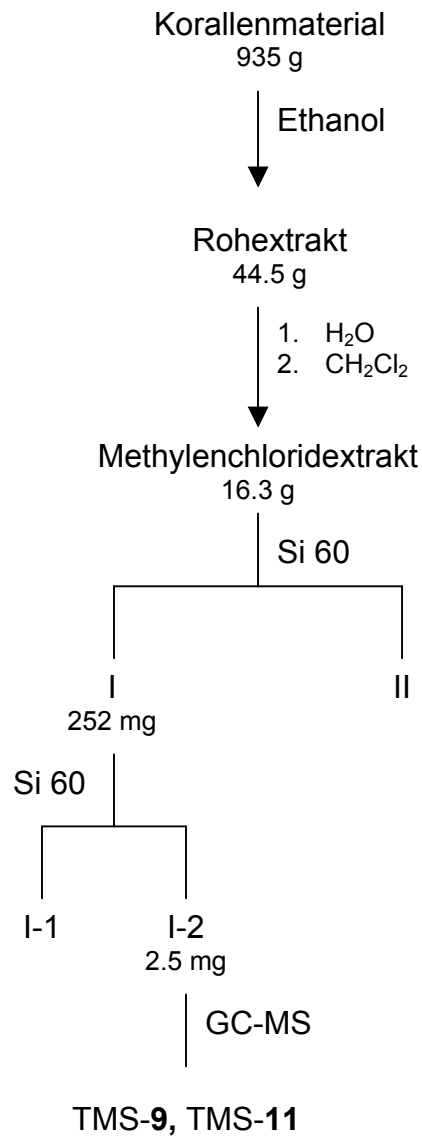


Abb. 47: Ein Ausschnitt aus dem „Hutabschnitt“ von *Sarcophyton glaucum* (Rotes Meer). Die einzelnen Polypen sind – typisch für Oktokorallen – mit acht gefiederten Tentakeln ausgestattet [171]

Sarcophyton tenuispiculatum (nebenstehendes Foto) (Familie Alcyoniidae) gehört zu den Pilzleiderkorallen. Sie haben einen polypenlosen Stamm auf dem sich eine polypenreiche pilzähnliche Verbreiterung befindet. Die Koralle kann braun bis grün mit weißen oder goldfarbigen Polypen sein. Sie ist im Indopazifik in niedrigen, sonnigen Gewässern zu finden und wird bis 50 cm groß.



Für diese Arbeit wurde *Sarcophyton tenuispiculatum* vor der Küste von Bali, Indonesien in Tiefen von 10-15 m im Mai 2001 gesammelt. Untersuchungsergebnisse über Inhaltsstoffe aus *Sarcophyton tenuispiculatum* sind bis jetzt nicht veröffentlicht worden.

AufarbeitungsschemaAbb. 48: Aufarbeitungsschema von *Sarcophyton tenuispiculatum***Strukturbestimmung**

Die ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren von Fraktion I-2 zeigen typische Signale für Δ^5 -Sterole. Da es sich um ein Gemisch handelt, wurden nach Trimethylsilylierung mittels GC-MS und Vergleich mit Referenzdaten Trimethylsilyl-24 ξ -methylcholesterol (TMS-**9**) ($\text{C}_{31}\text{H}_{56}\text{OSi}$, m/z 472) und Trimethylsilylgorgosterol (TMS-**11**) ($\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{OSi}$, m/z 498) identifiziert.

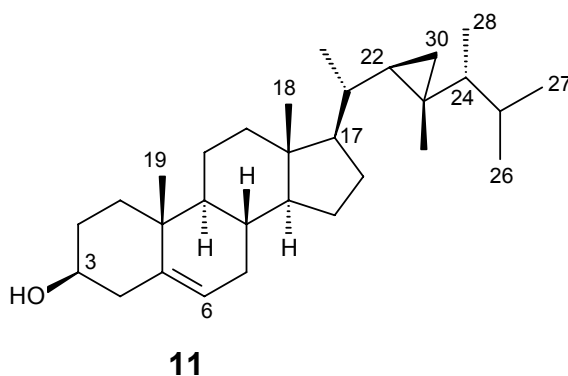


Abb. 49: Struktur des aus *Sarcophyton tenuispiculatum* isolierten Gorgosterols (**11**)

2.2.5 Das Cembran-Diterpen (–)-Nephtenol, Sterole und Ölsäure aus der Koralle *Nephthea* sp.

Beschreibung

Nephthea sp. (nebenstehendes Foto) wird auch Bäumchen-Weichkoralle genannt, da ihr Aussehen einem stark verzweigten Baum ähnelt. Sie hat einen polypenfreien Stamm, der zahlreiche Äste trägt. Die Polypen sitzen auf den Ästen entweder dicht beieinander in Form eines Polypenknäuels oder weit voneinander entfernt. Im Stamm dieser Bäumchen-Weichkorallen befinden sich schlauchförmige Hohlräume, Gastrovaskulärkanäle, die mit Wasser gefüllt werden [172]. Dadurch richtet sich die Koralle auf und erhält eine große Stabilität. Sie bleibt aber flexibel, um auch starke Wasserströmungen unbeschadet zu überstehen. *Nephthea* sp. gehört zu den Weichkorallen der Familie Nephtheidae und wird im Roten Meer und Indopazifik gefunden. Ihre Farbgebung reicht von violett, gelb-orange, gelb-grün bis gelb-blau.



Einige Cembran-Diterpene sind bereits aus der Koralle der Gattung *Nephthea* bekannt. Aus *Nephthea brassica* (Liouchou Island, Taiwan) konnten die Cembranoide Brassicolid Acetat, 2-Hydroxynephtenol, Cembren A und Epoxy-cembren A isoliert werden, die stark cytotoxisch gegen die Krebszelllinien A549,

HT-29, KB und P-388 wirken [92]. Untersuchungen von *Nephthea* sp. (Ra-Ra Riff, Raki Raki, Fidschi Inseln) ergab das cytotoxische Cembranoid Decaryiol [104]. Dieses zeigt einen GI_{50} von 0.19, 2.0 und 0.15 $\mu\text{g/mL}$ gegen die Krebszelllinien HM02 (humanes Magenadenokarzinom), Hepa2 (humaner Lungenkrebs) und MCF7 (humanes Mammakarzinom). Außerdem hemmt Decaryiol das Zellwachstum in der G2/M-Phase.

Im Golf von Suez, Ägypten wurde die zu untersuchende *Nephthea* sp. in einer Tiefe von 10 m im Juni 2001 gesammelt.

Aufarbeitungsschema

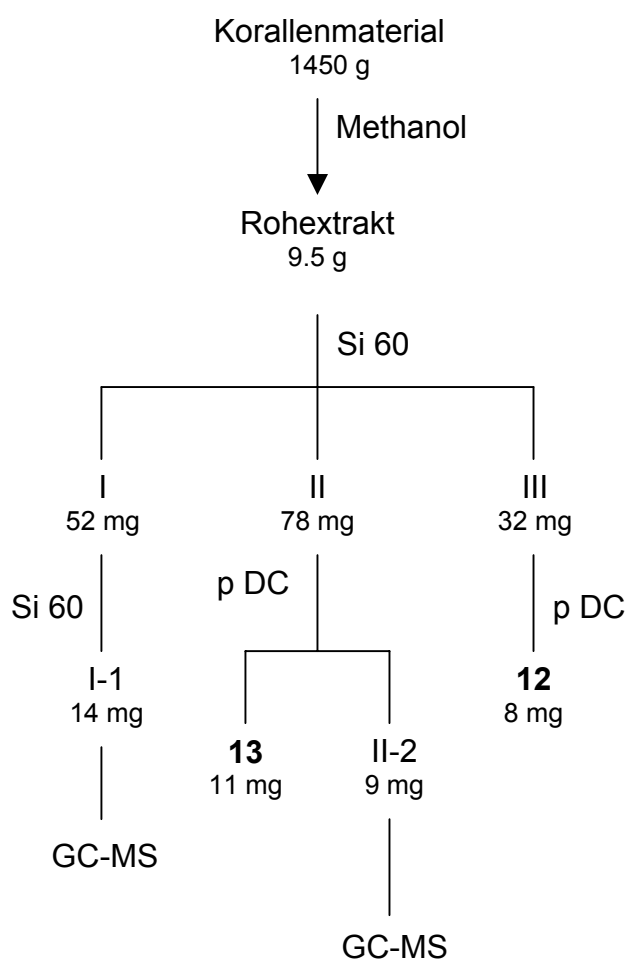


Abb. 50: Aufarbeitungsschema von *Nephthea* sp.

Strukturbestimmung

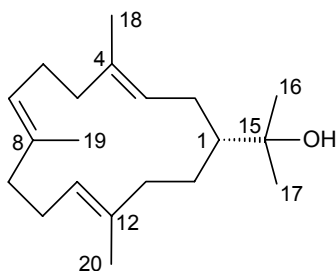
Im ^{13}C -NMR-Spektrum von Cembran **12** (Struktur von **12**, Abb. 51) erkennt man zwischen 120 und 140 ppm sechs Signale [C-11 (δ 125.0 ppm), C-7 (δ 125.8 ppm), C-3 (δ 125.9 ppm), C-8 (δ 133.0 ppm), C-4 (δ 133.4 ppm), C-12 (δ 134.4 ppm)], die

zum Doppelbindungsbereich gehören. Dies deutet auf drei Doppelbindungen im Cembran-Diterpen **12** hin. Das Signal des quartären Kohlenstoffatoms C-15 wird bei 73.9 ppm beobachtet. Seine Tieffeldverschiebung beweist, dass diese Position eine Hydroxyfunktion trägt. Die Verknüpfung der beiden Methylgruppen 16 und 17 an C-15 wird durch die HMBC-Korrelationen des C-15 mit den Protonen der Methylgruppen 16 (δ 1.18 ppm) und 17 (δ 1.18 ppm) bestätigt. Diese zeigen im HMBC Crosspeaks mit sich und mit C-1 (δ 48.5 ppm). Das Proton an C-1 (δ 1.31 ppm) besitzt im $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Spektrum jeweils Crosspeaks zu den Protonen an C-14 (δ 1.64/1.24 ppm) und an C-2 (δ 2.10/1.87 ppm). Letztere koppeln mit dem Doppelbindungsproton an C-3 (δ 5.09 ppm). Die $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Korrelation zwischen den Protonen an C-14 mit denen an C-13 (δ 2.62/2.00 ppm), beweist die Konnektivität C-3/C-2/C-1/C-14/C-13. Die Position der Doppelbindung zwischen 3 und 4 wird durch die drei HMBC-Crosspeaks des Protons an C-3 zu C-18 (δ 15.6 ppm), C-5 (δ 38.8 ppm) und C-1 bestätigt sowie den Crosspeaks zwischen den Protonen an C-2 und der C-4 Resonanz (δ 133.4 ppm). Das Doppelbindungsproton an C-11 (δ 4.99 ppm) zeigt drei Crosspeaks zu C-13 (δ 37.7 ppm), C-10 (δ 24.0 ppm) und C-20 (δ 15.6 ppm), wobei die Protonen der Methylgruppe 20 (δ 1.54 ppm) mit C-13, C-11 und C-12 Kreuzsignale besitzen. Ausgehend vom Doppelbindungsproton an C-7 erhält man im HMBC drei Crosspeaks zu C-6 (δ 24.7 ppm), C-19 (δ 15.3 ppm) und C-9 (δ 39.4 ppm). Die Position der Doppelbindung zwischen 7 und 8 wird durch den Crosspeak zwischen den Protonen an C-6 (δ 2.00 - 2.20 ppm) und C-8 im HMBC belegt. Die 3*E*-, 7*E*- und 11*E*-Konfiguration kann durch die chemische Verschiebung der ^{13}C -NMR-Signale der Methylgruppen 18, 19, 20 (δ_c 15.6, 15.3, 15.6) bestimmt werden [104, 173-174]. Das ESI von **12** zeigt ein Molekülpeak bei m/z 313 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Im Massenspektrum erkennt man neben dem kleinen Molekülion m/z 290 $[\text{M}]^+$ die Abspaltung von Wasser bei m/z 272 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$.

Die relative Konfiguration konnte mithilfe des ROESY-Experimentes nicht bestimmt werden. Allerdings durch den Vergleich des Drehwertes von **12** ($[\alpha]_D^{23}$ -35° , $c = 1.0$, CHCl_3) mit dem der Literatur ($[\alpha]_D$ -36° , $c = 0.18$, CHCl_3) konnte festgelegt werden, dass es sich um (–)-Nephthenol (**12**) handelt [175]. Die *R*-Konfiguration an C-1 bewiesen Tursch *et al.* durch Oxidation von (–)-Nephthenol nach Lemieux und von Rudloff zu (–)-Homoterpenylmethylketon. Sie verglichen das Produkt mit einer bekannten Probe von (–)-Homoterpenylmethylketon, dessen *R*-Konfiguration

bekannt ist, und erhielten Übereinstimmung bei den Drehwerten [175]. Schwab *et al.* bewiesen die *R*-Konfiguration an C-1 von (–)-Nephtenol durch Synthese [176]. Der Vergleich mit dessen ^{13}C -NMR-Daten bestätigte **12** als (–)-Nephtenol.

Nephtenol mit unbestimmten Drehsinn wurde das erste Mal aus *Nephthea* sp. (Eniwetok, Marshall Islands) isoliert [177]. Nephtenol aus *Nephthea brassica* (Liouchou Island, Taiwan), dessen Drehsinn ebenfalls unbekannt ist, weist cytotoxische Aktivität gegenüber A549 ($\text{EC}_{50} = 2.72$), HT-29 ($\text{EC}_{50} = 3.01$), KB ($\text{EC}_{50} = 1.81$) und P-388 ($\text{EC}_{50} = 0.42$) Krebszelllinien auf [92].

**12**Abb. 51: Struktur des aus *Nephthea* sp. isolierten (–)-Nephtenols (**12**)

Position	^1H	^{13}C	Position	^1H	^{13}C
1	1.31	48.5	11	4.99 dd, 6.4/6.1 Hz	125.0
2	2.10/1.87	28.5	12	-	134.0
3	5.09 dd, 7.3/6.0 Hz	125.9	13	2.62/2.00	37.7
4	-	133.4	14	1.64/1.24	28.3
5	2.10 – 1.90	38.8	15		73.9
6	2.20 – 2.00	24.7	16	1.18 s	27.7
7	4.93 dd, 6.5/5.6 Hz	125.8	17	1.18 s	27.5
8	-	133.0	18	1.55 s	15.6
9	2.10 – 1.90	39.4	19	1.55 s	15.3
10	2.20 – 2.00	24.0	20	1.54 s	15.6

Tab. 9: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (–)-Nephtenol (**12**) in CDCl_3

Aus den ^1H -NMR-, ^{13}C -NMR- und MS-Daten von **13** erkennt man, dass die Verbindung zwei Wasserstoffatome weniger besitzt als 24 ξ -Methylcholesterol (**9**). Außerdem sind Signale für eine endständige Methyleneinheit im ^{13}C -NMR-Spektrum bei 156.9 und 105.9 ppm und im ^1H -Spektrum zwei Singulets bei 4.69 und 4.64 ppm vorhanden. Auswertung der 2D-NMR-Spektren führt zu 24-Methylencholesterol (**13**). Der Vergleich mit Literaturdaten [178] und eine zusätzliche GC-MS-Messung bestätigt dies.

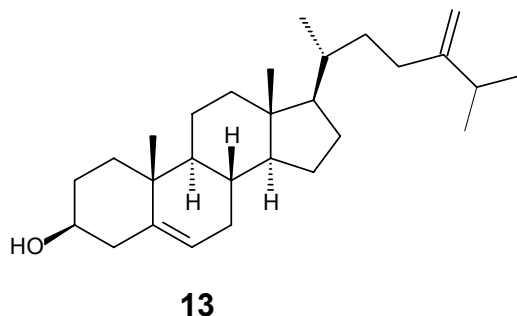


Abb. 52: Struktur des aus *Nephthea* sp. isolierten 24-Methylencholesteroles (**13**)

Position	^1H	^{13}C	Position	^1H	^{13}C
1	1.82/1.08	37.3	15	1.57/1.06	24.3
2	1.81/1.50	31.6	16	1.84/1.27	28.2
3	3.49	71.8	17	1.12	55.9
4	2.27/2.22	42.4	18	0.66 s	11.9
5	-	140.8	19	0.99 s	19.4
6	5.32	121.8	20	1.41	35.8
7	1.96/1.45	31.9	21	0.93	18.7
8	1.47	31.9	22	1.54/1.14	34.7
9	0.92	50.1	23	1.87/2.08	31.0
10	-	36.5	24	-	156.9
11	1.48	21.1	25	2.22	33.8
12	2.00/1.16	39.8	26	1.00	21.9
13	-	42.1	27	1.01	22.0
14	0.97	56.7	28	4.69 s 4.64 s	150.9

Tab. 10: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von 24-Methylencholesterol (**13**) in CDCl_3

Die ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren von Fraktion II-2 weisen auf ein Sterolgemisch hin. Das GC-MS zeigt nach Trimethylsilylierung die zwei Steroide Trimethylsilyl-24 ξ -

methylcholesterol (TMS-9) ($C_{31}H_{56}OSi$, m/z 472) und Trimethylsilylgorgosterol (TMS-11) ($C_{33}H_{58}OSi$, m/z 498).

Im 1H - und ^{13}C -Experiment von Fraktion I-1 zeigen sich einerseits Signale von Methylgruppen und andererseits Tieffeldsignale, die auf Doppelbindungen hinweisen. Die GC-MS-Analyse ergab nach Trimethylsilylierung Trimethylsilylölensäure ($C_{21}H_{42}O_2Si$, m/z 354) und Trimethylsilylpalmitinsäure (TMS-8) ($C_{19}H_{40}O_2Si$, m/z 328) als Hauptkomponenten. Die Isolierung von Fettsäuren, wie z. B. Palmitinsäure, aus Korallen ist nicht ungewöhnlich, da Fettsäuren ein wichtiger Bestandteil u. a. von lebenden Zellen sind [179].

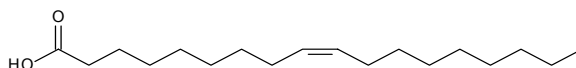


Abb. 53: Struktur der aus *Nephthea* sp. isolierten Ölsäure

2.2.6 Das Furanocembranoid (–)-11 β ,12 β -Epoxy pukalid, das Sesquiterpen (–)-Bicyclogermacren und Sterole aus der Koralle *Litophyton arboreum*

Beschreibung

Litophyton arboreum (nebenstehendes Foto) gehört auch zur Familie Nephtheidae und ist im Roten Meer oder Indopazifik zu Hause. Die grau-blaue bis elfenbeinfarbene Weichkoralle kann maximal 80 cm groß werden. Sie hat einen dicken polypenfreien Stamm, der sich baumartig verzweigt. Die Polypen sind an den Zweigenden als Bündel von mehr als zehn Polypen konzentriert, so dass sie ein brokkoliähnliches Aussehen haben. *Litophyton arboreum* wird auch Bäumchen-Weichkoralle genannt.



Aus *Litophyton arboreum* wurden bis jetzt keine Furanocembranoide erhalten. Allerdings sind aus *Litophyton arboreum* aus dem Südchinesischen Meer Polyhydroxysterole isoliert worden [180].

Vor den Küsten von Bali, Indonesien wurde die zu bearbeitende grau-blaue *Litophyton arboreum* in einer Tiefe von 10-15 m im Mai 2001 gesammelt.

Aufarbeitungsschema

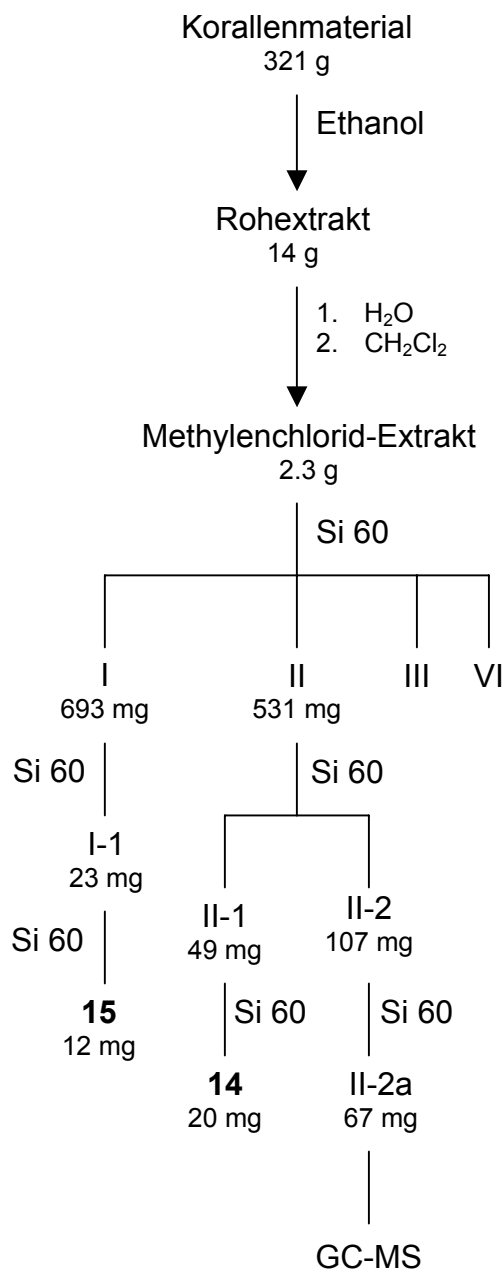


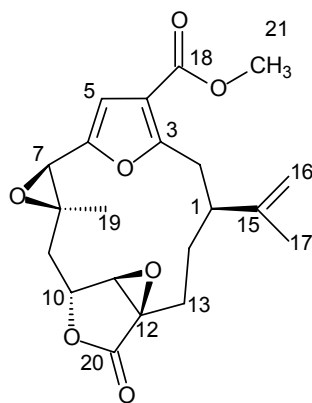
Abb. 54: Aufarbeitungsschema von *Litophyton arboreum*

Strukturbestimmung

Im ¹H-NMR-Spektrum von Furanocembranoid **14** (Struktur von **14**, Abb. 55) erkennt man ein Singulett bei 6.47 ppm. Dieses weist im HMBC-Experiment Crosspeaks zu C-3 (δ 160.0 ppm), C-4 (δ 114.0 ppm, ²J-Kopplung) und C-6 (δ 148.3 ppm) auf, die den Furanring bestätigen. Das Proton an C-5 (δ 6.47 ppm) koppelt im ¹H,¹H-COSY

zum Proton an C-7 (δ 4.04 ppm). Die Position der Methylgruppe 19 wird durch die HMBC-Crosspeaks zwischen den Protonen der Methylgruppe 19 (δ 1.13 ppm) und C-7, C-8 (δ 56.3 ppm, 2J -Kopplung) und C-9 (δ 39.2 ppm) bewiesen. Die ^{13}C -Resonanzen von C-7 und C-8 weisen auf ein Epoxid an dieser Stelle hin. Die Protonen an C-9 (δ 2.46/2.03 ppm) zeigen im $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY Crosspeaks zum Proton an C-10 (δ 4.72 ppm). Die Position des Lactonrings wird im HMBC-Experiment durch Crosspeaks des Protons an C-10 zu C-11 (δ 63.3 ppm), C-12 (δ 62.5 ppm) und C-20 (δ 171.2 ppm), sowie von C-20 zu den Protonen an C-10 und C-11 (δ 4.00 ppm) bestätigt. Die Zuordnung des zweiten Epoxids an Position 11 und 12 wird durch die ^{13}C -Resonanzen von C-11 und C-12 bewiesen. Ausgehend von C-20 erhält man im HMBC-Spektrum die Protonen an C-13 (δ 2.54/1.43 ppm), welche im $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Experiment zwei Crosspeaks mit den Protonen an C-14 (δ 1.64/1.43 ppm) zeigen. Letztere weisen im $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY Crosspeaks zum Proton an C-1 (δ 3.46 ppm) auf und dieses wiederum zu den Protonen an C-2 (δ 3.01 ppm). Die Verknüpfung der Methylengruppe an Position 2 mit dem Furanring wird durch die HMBC-Crosspeaks der Protonen an C-2 mit C-3 (2J -Kopplung) und C-4 bestätigt. Das Vorhandensein der Isopropylidengruppe an C-1 wird durch die Crosspeaks zwischen den Protonen der endständigen Doppelbindung an C-16 (δ 5.09/4.93 ppm) und C-17 (δ 18.9 ppm), C-15 (δ 145.4 ppm) und C-1 (δ 40.1 ppm) im HMBC-Experiment bewiesen. Die Tieffeldverschiebung des Signals der Methylgruppe 21 (δ 3.77 ppm) lässt auf einen Methylester schließen. Im HMBC-Spektrum sieht man einen Crosspeak zwischen diesen Protonen der Methylgruppe und C-18 (δ 164.0 ppm).

Aus dem Vergleich der NMR-Daten und des Drehwertes ergibt sich, dass es sich bei dieser Verbindung um (–)-11 β ,12 β -Epoxypukalid (**14**) handelt [181], dessen absolute Konfiguration bereits durch eine Röntgenstrukturanalyse bestimmt wurde [182]. (–)-11 β ,12 β -Epoxypukalid wurde das erste Mal aus der Koralle *Leptogorgia setacea* (Mustang Inseln) isoliert [181] und wirkt fischabschreckend [183].

**14**Abb. 55: Struktur des aus *Litophyton arboreum* isolierten (-)-11 β ,12 β -Epoxy-pukalids (**14**)

Position	^1H	^{13}C	Position	^1H	^{13}C
1	3.46 dt, 11.1/1.8 Hz	40.1	12	-	62.5
2	3.01	32.1	13	2.54 dd, 15.0/11.3 Hz 1.43	24.0
3	-	160.0	14	1.64/1.43	26.7
4	-	114.0	15	-	145.4
5	6.47 s	107.5	16	5.09 s 4.93 s	113.5
6	-	148.3	17	1.74 s	18.9
7	4.04 s	55.6	18	-	164.0
8	-	56.3	19	1.13 s	20.3
9	2.46 dd, 15.3/2.7 Hz 2.03 dd, 15.3/4.2 Hz	39.2	20	-	171.2
10	4.72	76.8	21	3.77 s	51.4
11	4.00 s	63.3			

Tab. 11: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (-)-11 β ,12 β -Epoxy-pukalid (**14**) in CDCl_3

Im ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektrum von **15** weisen die Signale auf zwei Doppelbindungen hin. Das Doppelbindungsproton an C-1 (δ 4.81 ppm) zeigt im ^1H , ^1H -COSY-Experiment Crosspeaks zu den Protonen an C-2 (δ 2.08/2.00 ppm) und diese koppeln mit denen an C-3 (δ 2.20/1.85 ppm). Die Position der Methylgruppe 15 und der Doppelbindung zwischen 4 und 5 werden durch die HMBC-Crosspeaks der Protonen der Methylgruppe 15 (δ 1.64 ppm) mit C-3 (δ 41.2 ppm), C-4 (δ 128.0 ppm) und C-5 (δ 126.5 ppm) bestätigt. Das Doppelbindungsproton an C-5 (δ 4.33 ppm)

weist im ^1H , ^1H -COSY-Spektrum Crosspeaks zu dem Proton an C-6 (δ 1.27 ppm) auf, welches seinerseits mit dem an C-7 (δ 0.59 ppm) koppelt. Auffallend ist, dass beide Protonen an C-6 und C-7 hochfeldverschoben sind. Dies liegt am Cyclopropanring, der durch C-6, C-7 und C-11 (δ 19.9 ppm) gebildet wird. Die HMBC-Crosspeaks von C-11 zu den Protonen an C-6 und C-7 sowie zu den Protonen der Methylgruppe 12 (δ 1.07 ppm) und 13 (δ 1.01 ppm) beweisen dies. Das Proton an C-7 zeigt im ^1H , ^1H -COSY-Experiment Crosspeaks mit den Protonen an C-8 (δ 1.88/1.20 ppm) und diese mit den Protonen an C-9 (δ 2.40/1.70 ppm). Die Crosspeaks zwischen den Protonen der Methylgruppe 14 (δ 1.46 ppm) und C-10 (δ 140.8 ppm), C-1 (δ 124.8 ppm) und C-9 (δ 37.2 ppm) im HMBC bestätigen die Lage der Methylgruppe 14 und die Doppelbindung zwischen 1 und 10. Das Massenspektrum stützt diesen Strukturvorschlag mit dem Ion $[\text{M}]^{+\cdot}$ bei m/z 204. Der weitere Vergleich der NMR-Daten und des Drehwertes mit den Literaturwerten bestätigt, dass es sich um das bekannte (–)-Bicyclogermacren handelt [184-185]. Aus einem marinen Organismus wurde (–)-Bicyclogermacren, das bisher nicht aus *Litophyton arboreum* bekannt war, das erste Mal aus der Weichkoralle *Sinularia mayi* (Telukdalam, Nias Inseln, Indonesien) isoliert [186].

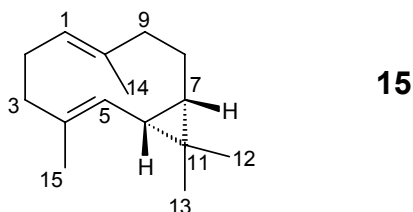


Abb. 56: Struktur des aus *Litophyton arboreum* isolierten (–)-Bicyclogermacrens (**15**)

Position	^1H	^{13}C	Position	^1H	^{13}C
1	4.81 dd, 10.6/4.7 Hz	124.8	9	2.40/1.70	37.2
2	2.08/2.00	26.0	10	-	140.8
3	2.20/1.85	41.2	11	-	19.9
4	-	128.0	12	1.07 s	29.2
5	4.33 d 11.4 Hz	126.5	13	1.01 s	15.4
6	1.27dd, 11.5/8.5 Hz	27.0	14	1.46 d, 1.2 Hz	20.9
7	0.59	30.1	15	1.64 d, 1.3 Hz	16.6
8	1.88/1.20	26.8			

Tab. 12: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (–)-Bicyclogermacren (**15**) in CDCl_3

Das ^1H -NMR-Spektrum von Fraktion II-2a weist auf typische Signale für Steroide mit Doppelbindungen hin. Die Hauptkomponenten des Steroidgemisches werden nach Trimethylsilylierung durch GC-MS und Vergleich mit Referenzspektren als Trimethylsilylcholesterol ($\text{C}_{30}\text{H}_{54}\text{OSi}$, m/z 458), Trimethylsilyl-24 ξ -methylcholesterol (TMS-9) ($\text{C}_{31}\text{H}_{56}\text{OSi}$, m/z 472) und Trimethylsilylgorgosterol (TMS-11) ($\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{OSi}$, m/z 498) identifiziert.

2.2.7 Ein Cembran-Diterpen und Sterole aus der Koralle *Sarcophyton trocheliophorum*

Beschreibung

Sarcophyton trocheliophorum (nebenstehendes Foto), die der Familie Alcyoniidae zuzuordnen ist, hat einen polypenfreien Stamm, auf dem der sogenannte „Teller“ sitzt. Er sieht wie ein großes Blatt mit einem sinusförmig gewellten Rand aus. Daher bekam die Koralle auch den Namen Troglederkoralle. Auf dem „Teller“ befinden sich



schlauchförmige Polypen, die eingezogen werden können. *Sarcophyton trocheliophorum* lebt im Roten Meer oder Indopazifik in einer Tiefe von maximal 20 m. Sie kann einen Durchmesser von bis zu 60 cm erreichen.

Aus *Sarcophyton trocheliophorum* (Nanwan, Kenting) sind (+)-Isosarcophytoxid und (+)-Isosarcophin bekannt. (+)-Isosarcophytoxid zeigt eine starke cytotoxische Aktivität gegen die Krebszelllinien A549, HT-29, KB, P-388 und HL-60 (humane promyelogene Leukämie) mit ED_{50} -Werten von 8.23, 8.27, 9.98, 0.49 und 0.80 $\mu\text{g/mL}$ und (+)-Isosarcophin mit ED_{50} -Werten von 13.32, 16.88, 24.54, 0.73 und 6.73 $\mu\text{g/mL}$ [187]. Die Cembran-Diterpene (7*R*,14*S*,1*E*,3*E*,8*E*,11*E*)-Cembra-1,3,8,11-tetraen-7,14-diol, (7*R*,8*R*,14*S*,1*E*,3*E*,11*E*)-7,8-Epoxycebra-1,3,11-trien-14-ol und (7*R*,8*R*,14*S*,1*E*,3*E*,11*E*)-14-Acetoxy-7,8-epoxycebra-1,3,11-trien wurden in *Sarcophyton trocheliophorum* vom Nord-Ost Riff der Orpheus Insel, Australien gefunden. Diese zwei Cembranoide sind cytotoxisch gegen die Krebszelllinie P-388 (IC_{50} = 2.5 $\mu\text{g/ml}$), A549 (IC_{50} = 5 $\mu\text{g/ml}$), HT-29 (IC_{50} = 10 $\mu\text{g/ml}$) und Mel28 (humanes Melanom) (IC_{50} = 10 $\mu\text{g/ml}$) [188]. Des Weiteren konnte aus *Sarcophyton trocheliophorum*

(Pulau Hantu, Singapur) das cytotoxische 23,24-Dimethylcholest-16(17)*E*-en, $3\beta,5\alpha,6\beta,20(S)$ -tetrol isoliert werden. Es hemmt das Wachstum der Tumorzellen HL-60, M14 (humanes amelanotisches Melanom) und MCF7 mit einem EC_{50} -Werte von 2.8, 4.3 und 4.9 $\mu\text{g/ml}$. Dieses Polyhydroxysterol zeigt außerdem eine minimale Toxizität gegenüber normalen humanen peripheren Blutlymphozyten (PBLs) und würde sich dadurch als Chemotherapeutikum anbieten [189].

Die bearbeitete *Sarcophyton trocheliophorum* wurde im Golf von Suez, Ägypten in einer Tiefe von 10-15 m im Mai 2001 gesammelt.

Aufarbeitungsschema

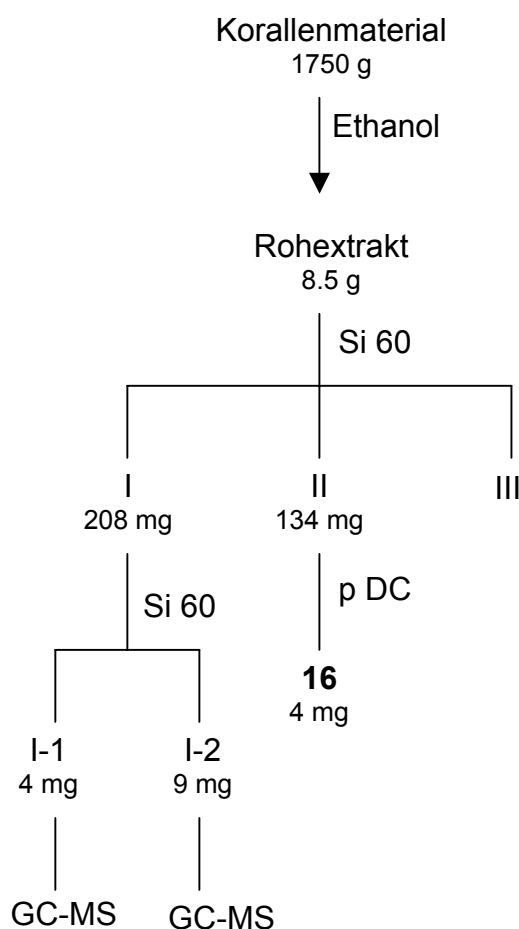


Abb. 57: Aufarbeitungsschema von *Sarcophyton trocheliophorum*

Strukturbestimmung

Aus dem HR-ESI-MS ergibt sich für Cembran **16** (Struktur von **16**, Abb. 58) eine Molekülmasse von 348 (m/z 371.2209 $[M+Na]^+$). Das ^{13}C -NMR-Spektrum lässt sich in drei Bereiche aufteilen, die typisch für Cembranoide sind. Im ersten Bereich liegen vier Methyl- (C-17, C-18, C-19 C-20) und sechs Methylengruppen (C-5, C-6, C-9,

C-10, C-13, C-14) vor. Daran schließen sich die sauerstoffgebundenen Kohlenstoffatome an (eine Methoxygruppe C-21, zwei Methingruppen C-2, C-7 und ein quartäres Kohlenstoffatom C-8). Die übrigen sieben Signale sind zwei olefinische Methingruppen (C-3, C-11) und vier olefinische quartäre Kohlenstoffatome (C-1, C-15, C-4, C-12), die zu drei Doppelbindungen gehören und ein Lacton-Carbonyl-Kohlenstoffatom C-16. Das $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Experiment zeigt einen Crosspeak zwischen dem Proton an C-2 (δ 5.38 ppm) und dem an C-3 (δ 4.91 ppm). Die Lage der Methylgruppe 18 ist durch die HMBC-Crosspeaks zwischen den Protonen der Methylgruppe 18 (δ 1.84 ppm) und C-4, C-3 und C-5 festgelegt. Die Protonen an C-5 (δ 2.23/2.15 ppm) besitzen im $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Spektrum Crosspeaks zu den Protonen an C-6 (δ 1.77/1.48 ppm) und diese zum Proton an C-7 (δ 3.25 ppm). Die Resonanz des Protons an C-7 weist auf eine Hydroxylierung in dieser Position hin. Die Methylgruppe 19 ist an das quartäre C-8 gebunden. Aus dem HMBC-Experiment ist dies durch die vorhandenen Crosspeaks der Protonen der Methylgruppe 19 (δ 1.04 ppm) zu C-8, C-9 und C-7 ersichtlich. Die Protonen an C-9 (δ 1.71/1.52 ppm) zeigen im $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Spektrum Crosspeaks zu den Protonen an C-10 (δ 2.11/1.92 ppm). Letztere weisen Crosspeaks zum Proton an C-11 (δ 5.31 ppm) auf. Die Position der Methylgruppe 20 wird durch die HMBC-Crosspeaks der Protonen der Methylgruppe 20 (δ 1.61 ppm) zu C-12, C-11 und C-13 bewiesen. Die Protonen an C-13 (δ 2.36/2.22 ppm) besitzen im $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Experiment Crosspeaks zu den Protonen an C-14 (δ 2.66/1.94 ppm). Die HMBC-Crosspeaks von C-1 zu den Protonen an C-14 und dem Proton an C-2 belegen den Ringschluss zwischen C-1 und C-14 des 14-gliedrigen Ringes. Im HMBC-Spektrum werden Crosspeaks zwischen den Protonen der Methylgruppe 17 (δ 1.88 ppm) und C-1, C-15 und C-16 beobachtet, die die Lage der Methylgruppe 17 bestimmen. Das Signal bei 48.9 ppm stellt die Methoxygruppe an Position C-8 dar. Belegt wird dies durch HMBC-Crosspeak von C-8 zu den Methoxyprotonen (δ 3.14 ppm).

Die relative Stereochemie von **16** wird durch ein ROESY Experiment bestimmt. Der NOE zwischen dem Proton an C-2 und den Protonen der Methylgruppe 18 weisen auf die β -Position des Protons an C-2 und der Methylgruppe 18 hin. Die ^{13}C -Resonanzen der Methylgruppen 18 und 20 beweisen die trans-Konfiguration der 3,4 und 11,12 Doppelbindung [104, 173-174]. Die ROESY-Crosspeaks des Protons an C-3 zum Proton an C-7 und an C-6 (δ 1.77 ppm), das zusätzlich einen Crosspeak

zu den Protonen der Methoxygruppe aufweist, zeigt die α -Konfiguration von H-3, H-7, H-6 (δ 1.77 ppm) und der Methoxygruppe.

Bei dieser neuen Verbindung handelt es sich um $(-)$ -7 β -Hydroxy-8 α -methoxydeepoxysarcophin (**16**). Sie wurde bereits durch säurekatalytische Methanolyse des Epoxidrings von $(+)$ -Sarcophin, dessen absolute Konfiguration durch Röntgenstrukturanalyse bekannt ist [190], hergestellt [191]. Die ^{13}C -NMR-Daten der isolierten und der synthetischen Verbindung stimmen gut überein.

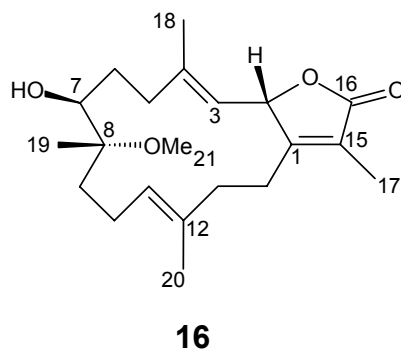


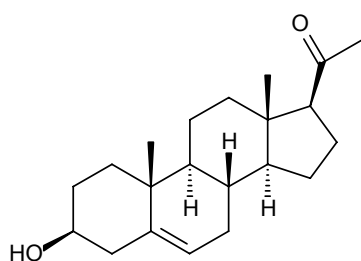
Abb. 58: Struktur des aus *Sarcophyton trocheliophorum* isolierten $(-)$ -7 β -Hydroxy-8 α -methoxydeepoxysarcophins (**16**)

Position	^1H	^{13}C	Position	^1H	^{13}C
1	-	163.1	12	-	135.7
2	5.38 dd, 10.0/1.6 Hz	80.4	13	2.36/2.22	36.8
3	4.91 dd, 10.0/1.1 Hz	118.2	14	2.66/1.94	26.9
4	-	146.7	15	-	123.1
5	2.23/2.15	38.8	16	-	175.0
6	1.77/1.48	28.3	17	1.88 s	9.6
7	3.25 dd, 8.5/3.6 Hz	73.7	18	1.84 s	16.7
8	-	79.3	19	1.04 s	18.1
9	1.71/1.52	31.5	20	1.61 s	16.2
10	2.11/1.92	21.3	CH ₃ O	3.14 s	48.9
11	5.31 dd, 7.2/7.2 Hz	127.9			

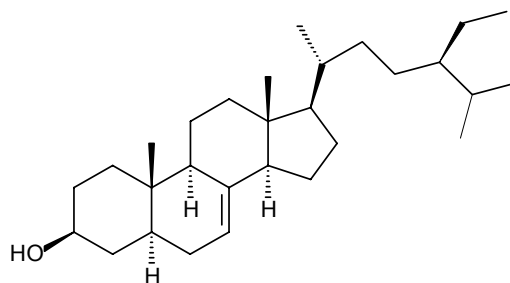
Tab. 13: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von $(-)$ -7 β -Hydroxy-8 α -methoxydeepoxysarcophin (**16**) in CDCl_3

Die ^1H -NMR-Spektren von den Fraktionen I-2 und I-1 weisen auf ein Steroidgemisch hin. Das GC-MS von I-2 zeigt nach Trimethylsilylierung neben nicht identifizierbaren

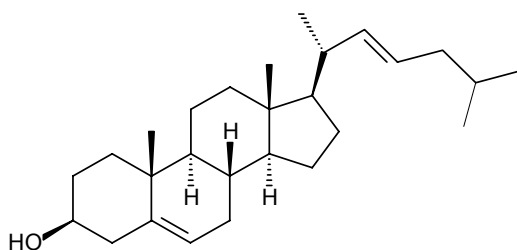
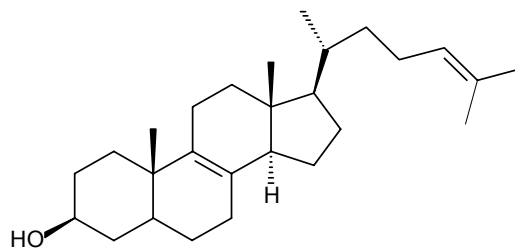
Signalen Trimethylsilylpregnenolon ($C_{24}H_{40}O_2Si$, m/z 388), Trimethylsilylcholesterol ($C_{30}H_{54}OSi$, m/z 458), Trimethylsilyl-24 ξ -methylcholesterol (TMS-9) ($C_{31}H_{56}OSi$, m/z 472), Trimethylsilylstigmasterol ($C_{32}H_{56}OSi$, m/z 484), Trimethylsilylschottenol ($C_{32}H_{58}OSi$, m/z 486) und Trimethylsilylpalmitinsäure (TMS-8) ($C_{19}H_{40}O_2Si$, m/z 328). Das Steroidgemisch von I-1 konnte nach Trimethylsilylierung durch GC-MS als Trimethylsilyl-22(*E*)-cholest-5,22-dien-3 β -ol ($C_{30}H_{52}OSi$, m/z 456), Trimethylsilylcholesterol ($C_{30}H_{54}OSi$, m/z 458), Trimethylsilylzymosterol ($C_{30}H_{52}OSi$, m/z 456), Trimethylsilyl-24 ξ -methylcholesterol (TMS-9) ($C_{31}H_{56}OSi$, m/z 472), Trimethylsilylstigmasterol ($C_{32}H_{56}OSi$, m/z 484) und Trimethylsilylgorgosterol (TMS-11) ($C_{33}H_{58}OSi$, m/z 498) bestimmt werden.



Pregnenolon



Schottenol

(22*E*)-Cholest-5,22-dien-3 β -ol

Zymosterol

Abb. 59: Strukturen einiger aus *Sarcophyton trocheliophorum* isolierten Steroide

2.2.8 Zwei Cembran-Diterpene und 24 ξ -Methylcholesterol aus der Koralle

Sarcophyton glaucum

Beschreibung

Ebenfalls zur Familie Alcyoniidae gehört die Pilz-Lederkoralle *Sarcophyton glaucum* (nebenstehendes Foto). Sie kann bis zu 20 cm groß werden und besitzt einen dicken, kurzen Stamm mit einer pilz- bis hutförmigen Verbreiterung. Die Polypen befinden sich nur auf der Pilzhutoberfläche und sind einziehbar. Die bräunliche Koralle



lebt im Roten Meer, Indopazifik und an den Küsten Ostafrikas und Australiens in einer Tiefe bis 20 m. Das Cembranoid Sarcophytolid aus *Sarcophyton glaucum* (Hurghada, Rotes Meer, Ägypten) zeigt starke neuronenschützende Wirkung vor Glutamat [192]. Die Cembran-Diterpene Sarcophytol A, Sarcophytol A Acetat und Sarcophytol B wurden als Hauptkomponenten in *Sarcophyton glaucum* (Ishigaki Island) gefunden [193]. Sarcophytol A und B hemmen nicht-toxisch die durch den Tumor-Promotor Teleocidin hervorgerufene Tumor-Ausbreitung in einer zweistufigen Karzinogenese auf der Mäusehaut [194]. 16-Oxysarcoglaucolacetat ist aus *Sarcophyton glaucum*, die im Kitungamwe Riff, Kenia gesammelt wurde, bekannt [195].

Die untersuchte *Sarcophyton glaucum* wurde im April 2002 im Roten Meer bei Hurghada, Ägypten in 10-15 m Tiefe gesammelt.

Aufarbeitungsschema

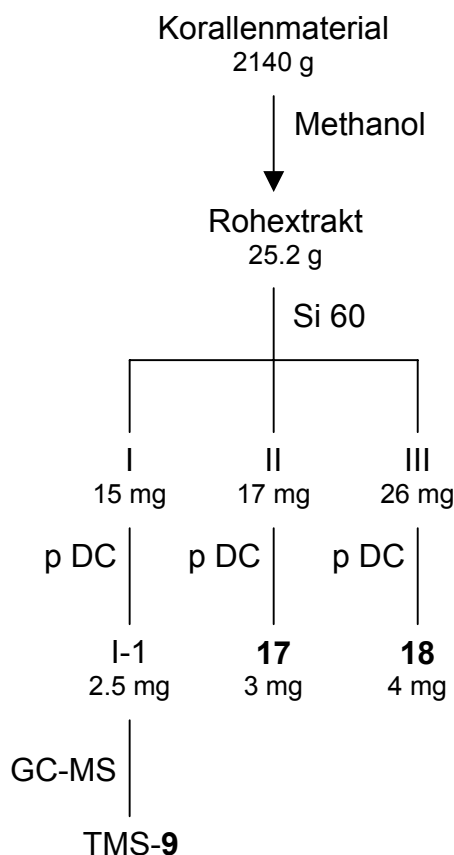


Abb. 60: Aufarbeitungsschema von *Sarcophyton glaucum*

Strukturbestimmung

Vergleicht man die ^{13}C -NMR-Spektren von **17** und **16** zeigt sich ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden Cembran-Diterpenen. An Stelle des Lacton-Carbonyl-Kohlenstoffatoms C-16 bei 175.0 ppm in **16** befindet sich in **17** bei 78.5 ppm eine Methylengruppe. Die Protonen dieser Methylengruppe an C-16 (δ 4.47 ppm) weisen im HMBC-Experiment Crosspeaks zu C-15 (δ 127.7 ppm), C-1 (δ 133.5 ppm) und C-2 (δ 83.9 ppm) auf. Die Veränderung im 5-Ring wird ebenso durch das um 14 Masseneinheiten erniedrigte Molekülion m/z 357 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) im ESI-MS-Spektrum bestätigt.

Mithilfe des ROESY-Spektrums kann die relative Konfiguration von **17** festgelegt werden. Das Proton an C-3 (δ 5.13 ppm) weist NOEs zum Proton an C-5 (δ 2.36 ppm) und zu dem an C-7 (δ 3.49 ppm) auf. Letzteres zeigt ebenfalls einen Crosspeak zum Proton an C-5 (δ 2.36 ppm) und zu einem der Protonen an C-9 (δ 1.82 ppm), welches seinerseits mit den Protonen der Methoxygruppe (δ 3.16 ppm) wechselwirkt. Somit befinden sich H-3, H-5 (δ 2.36 ppm), H-7, H-9 (δ 1.82 ppm) und die

Methoxygruppe auf der α -Seite von **17**. Die β -Konfiguration des Protons an C-2 und der Methylgruppe 18 wird durch das Kreuzsignal zwischen dem Proton an C-2 (δ 5.52 ppm) und den Protonen der Methylgruppe 18 (δ 1.79 ppm) bestätigt. Außerdem zeigen die Resonanzen von C-18 (δ 15.6 ppm) und C-20 (δ 15.7 ppm), dass die Doppelbindungen 3,4 und 11,12 trans konfiguriert sind [104, 173-174]. Somit lässt sich die Struktur des neuen Cembran-Diterpens **17** als (+)-7 β -Hydroxy-8 α -methoxydeepoxysarcophytoxid angeben. Allerdings kann davon ausgegangen werden, dass **17** ein Artefakt der Aufarbeitung ist, da der Korallenextrakt mit Methanol versetzt wurde.

Beim Cembran-Diterpen **18** geht aus den ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Daten hervor, dass diese Verbindung anstelle der Methoxygruppe an C-8 in **17** eine Hydroxygruppe trägt. Der Vergleich der NMR-Daten und des Drehwertes mit den Literaturwerten bestätigt, dass es sich um (+)-7 α ,8 β -Dihydroxydeepoxysarcophytoxid handelt. (+)-7 α ,8 β -Dihydroxydeepoxysarcophytoxid ist bereits aus der Weichkoralle *Sarcophyton* sp. (Ishigaki Island, Okinawa) bekannt [196].

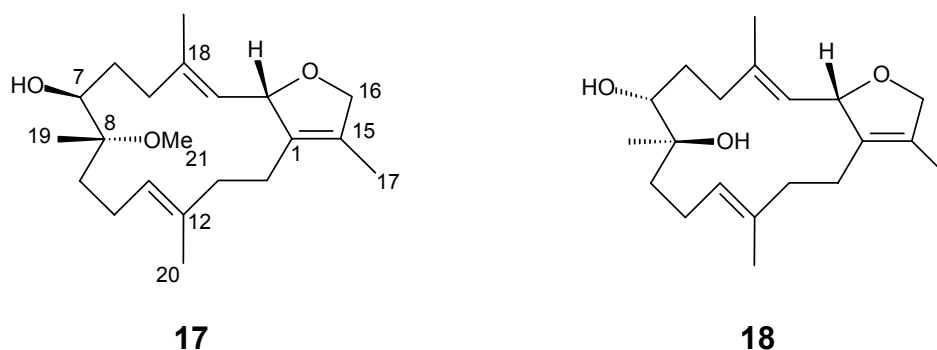


Abb. 61: Strukturen der aus *Sarcophyton glaucum* isolierten Cembranoide **17** und **18**

	17		18	
Position	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
1	-	133.5	-	133.3
2	5.52	83.9	5.52	84.0
3	5.13 d, 10.1 Hz	126.7	5.12 d, 10.2 Hz	126.8
4	-	139.5	-	139.1
5	2.36 ddd, 13.1/13.0/3.3 Hz 2.12	35.7	2.37 ddd, 12.9/12.9/2.7 Hz 2.14	35.6
6	1.85/1.41	26.6	1.84/1.47	26.7

7	3.49 dd, 9.9/9.7 Hz	72.7	3.55 d, 10.9 Hz	72.9
8	-	79.5	-	75.5
9	1.82/1.58	31.2	1.79/1.68	37.0
10	2.07	23.3	2.20/2.09	23.6
11	5.00 t, 7.2 Hz	124.4	4.91 dd, 9.6/4.2 Hz	124.2
12	-	135.6	-	135.8
13	1.92	36.5	1.92	36.7
14	2.46/1.72	25.0	2.50/1.67	25.3
15		127.7	-	127.9
16	4.47 brs	78.5	4.48 brs	78.5
17	1.61 s	10.2	1.62 s	10.0
18	1.79 s	15.6	1.83 s	16.0
19	1.11 s	18.4	1.17 s	24.2
20	1.60 s	15.7	1.61 s	15.4
CH ₃ O	3.16 s	49.2		

Tab. 14: ¹H- und ¹³C-NMR-Daten von (+)-7 β -Hydroxy-8 α -methoxydeepoxysarcophytoxid (**17**) und (+)-7 α ,8 β -Dihydroxydeepoxysarcophytoxid (**18**) in CDCl₃

Das ¹H-NMR-Spektrum von Fraktion I-1 lässt neben Verunreinigungen auf ein Steroid schließen. Nachdem die genaue Zuordnung mit 2D-NMR-Daten nicht möglich war, wurde nach Trimethylsilylierung durch GC-MS-Analyse Trimethylsilyl-24 ξ -methylcholesterol (TMS-**9**) (C₃₁H₅₆OSi, m/z 472) als Hauptkomponente identifiziert.

2.2.9 Vier Cembran-Diterpene aus der Koralle *Sinularia polydactyla*

Beschreibung

Die Lederkorallen der Gattung *Sinularia* sind monomorph, da sie im Vergleich zur Gattung *Sarcophyton* keine kurzen Polypen besitzen. Anscheinend benötigt sie die Siphonozooide nicht um einen ausreichenden Wassertransport und Gasaustausch im Korallengewebe zu gewährleisten [197,170].

Sinularia polydactyla ist aus dem Roten Meer und Indo-West-Pazifik bekannt. Sie kann einen Durchmesser von 30 cm erreichen und lebt in Tiefen bis 25 m. *Sinularia polydactyla* gehört zur Familie Alcyoniidae. Auf Grund ihres fingerförmigen Aussehens wird sie auch Vielfinger-Lederkoralle genannt. Aus einer gelbbraun-bläulichen „Scheibe“ wachsen einzelne polypenbesetzte Finger bzw. Hände. Wie Abb. 62 zeigt, können die Polypen eingezogen werden.



Abb. 62: *Sinularia polydactyla* mit eingezogenen Polypen (links) und ausgestreckten Polypen (rechts)

In *Sinularia polydactyla* von den Palm Islands, Australien, wurde das Furanocembranoid 13 α -Acetoxy-11 β ,12 β -epoxypukalid und ein Furanocembranoid Isomer sowie das Cembranoid 1-Epithunbergol gefunden [198].

Die zu untersuchende *Sinularia polydactyla* wurde im Golf von Suez, Ägypten in einer Tiefe von 10-15 m im Mai 2001 gesammelt.

Aufarbeitungsschema

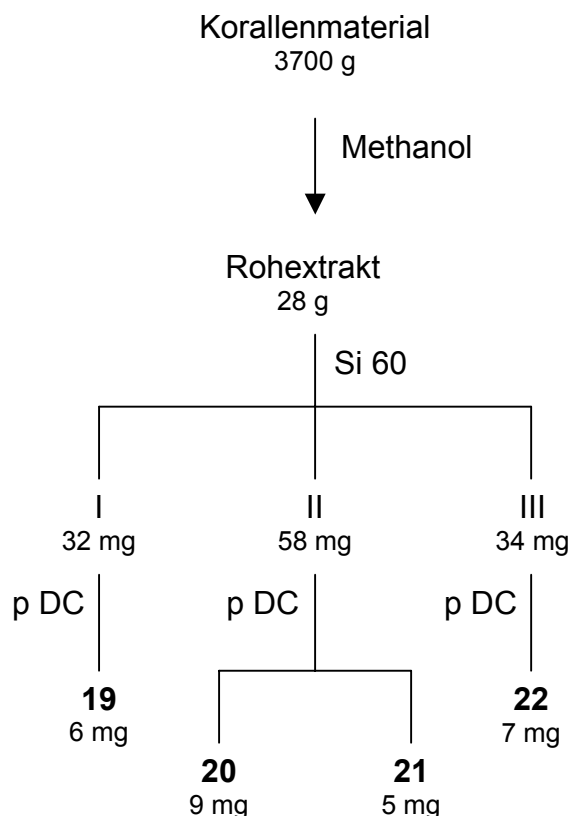


Abb. 63: Aufarbeitungsschema von *Sinularia polydactyla*

Strukturbestimmung

Das ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung **19** (Struktur von **19**, Abb. 64) zeigt drei Bereiche, die für das Cembranoid Diterpen-Gerüst typisch sind. Sechs Methylen-(C-5, C-6, C-9, C-10, C-13, C-14) und vier Methylgruppen (C-17, C-18, C-19, C-20) gehören zu den Hochfeldsignalen. Im Bereich 2 sind die sauerstoffverknüpften Kohlenstoffatome (zwei quartäre Kohlenstoffatome C-4, C-8 und eine Methingruppe C-7) und im dritten Bereich die sieben Tieffeldsignale für drei Doppelbindungen (C-2, C-3, C-11, C-12, C-1, C-15) und einem Lacton-Carbonyl-Kohlenstoffatom C-16 zu beobachten. Vergleicht man **19** mit **16** fällt auf, dass die zwei Methylgruppen 18 und 19 bei höheren Resonanzfrequenzen liegen und dass im Bereich 2 an Stelle des Signals einer zweiten Methingruppe ein zweites quartäres Kohlenstoffatom-Signal vorhanden ist und die Methoxygruppen-Resonanz fehlt.

Im ^1H -NMR-Spektrum zeigt das Proton an C-3 ein Singulett bei 5.14 ppm. Dies bedeutet, dass das Doppelbindungsproton an C-3 keinen Kopplungspartner besitzt und sich deshalb die Doppelbindung an Position 2,3 befinden muss. Die HMBC-Crosspeaks des Protons an C-3 zu C-1, C-2 (^2J -Kopplung) und C-18 bestätigen dies.

Die Protonen der Methylgruppe 18 (δ 1.45 ppm) weisen im HMBC-Experiment Crosspeaks zu C-4 (2J -Kopplung) und C-5 auf. Die Protonen an C-5 (δ 1.97/1.86 ppm) zeigen im $^1H, ^1H$ -COSY-Spektrum Crosspeaks zu den Protonen an C-6 (δ 1.47 ppm) und diese zum Proton an C-7 (δ 3.41 ppm). Die Position der Methylgruppe 19 wird durch die HMBC-Crosspeaks zwischen den Protonen der Methylgruppe 19 (δ 1.15 ppm) und C-8, C-7 und C-9 bewiesen. Die Protonen an C-10 (δ 2.27/1.82 ppm) weisen Crosspeaks zu den Protonen an C-9 und dem Proton an C-11 (δ 4.94 ppm) im $^1H, ^1H$ -COSY-Experiment auf. Die Lage der Doppelbindung 11,12 erhält man ebenfalls durch die HMBC-Crosspeaks zwischen den Protonen der Methylgruppe 20 (δ 1.62 ppm) und C-11, C-12 (2J -Kopplung) und C-13. Die Protonen an C-13 (δ 2.27/2.19 ppm) zeigen Kreuzsignale mit den Protonen an C-14 (δ 2.53 ppm) im $^1H, ^1H$ -COSY-Spektrum. Weiterhin belegen im HMBC-Experiment die Crosspeaks der Protonen an C-14 mit C-1 und C-2 die Konnektivität zwischen C-1 und C-14. Die Position der Methylgruppe 17 wird durch die HMBC-Crosspeaks der Protonen der Methylgruppe 17 (δ 1.89 ppm) zu C-15 (2J -Kopplung), C-1 und C-16 bestätigt.

Die ^{13}C -Resonanzen der zwei quartären Kohlenstoffatome C-4 und C-8 (73.7 und 74.6 ppm) und der Methylgruppe C-7 (77.3 ppm) weisen auf drei Hydroxyfunktionen in **19** hin. Aus diesem Grund wurde **19** zusätzlich in DMSO- D_6 vermessen. Die drei Hydroxygruppen sind im 1H -NMR-Spektrum (DMSO- D_6) bei 4.69 ppm (s, HO-4), 3.88 ppm (d, 6.5 Hz, HO-7) und 3.81 ppm (s, HO-8) zu sehen. Im HMBC-Spektrum weist das Proton der Hydroxygruppe an C-7 Crosspeaks zu C-19 und C-7 und das Proton der Hydroxygruppe an C-8 zu C-9, C-8 und C-7 auf, was die Position der zwei Hydroxygruppen an C-8 und C-7 bestätigt. Die Position der Hydroxygruppe an C-4 wird durch die HMBC-Crosspeaks des Protons der Hydroxygruppe an C-4 zu C-5 und C-3 bestimmt.

Die relative Konfiguration von **19** wird durch ein ROESY-Experiment festgelegt. Die ROESY Crosspeaks des Protons an C-7 mit den Protonen der Methylgruppe 18 und einem Proton an C-10 (δ 1.82 ppm) zeigen, dass H-7, die Methylgruppe 18 und das Proton an C-10 (δ 1.82 ppm) auf der α -Seite des Moleküls sind. Daraus ergibt sich, dass die Hydroxygruppen an C-4 und C-7 β -konfiguriert sind. Die β -Konfiguration der Hydroxygruppe an C-8 wird durch einen NOE zwischen den Protonen der Methylgruppe 19 und dem α -Proton an C-10 (δ 1.82 ppm) bestimmt. Die trans-Konfiguration der Doppelbindung 11,12 zeigt sich durch die ^{13}C -Resonanz der Methylgruppe 20

(δ 15.6 ppm) [104, 173-174]. Das Proton an C-3 zeigt im ROESY-Spektrum (DMSO- D_6) Wechselwirkung mit beiden Protonen an C-14 und legt damit die cis-Konfiguration der Doppelbindung 2,3 fest.

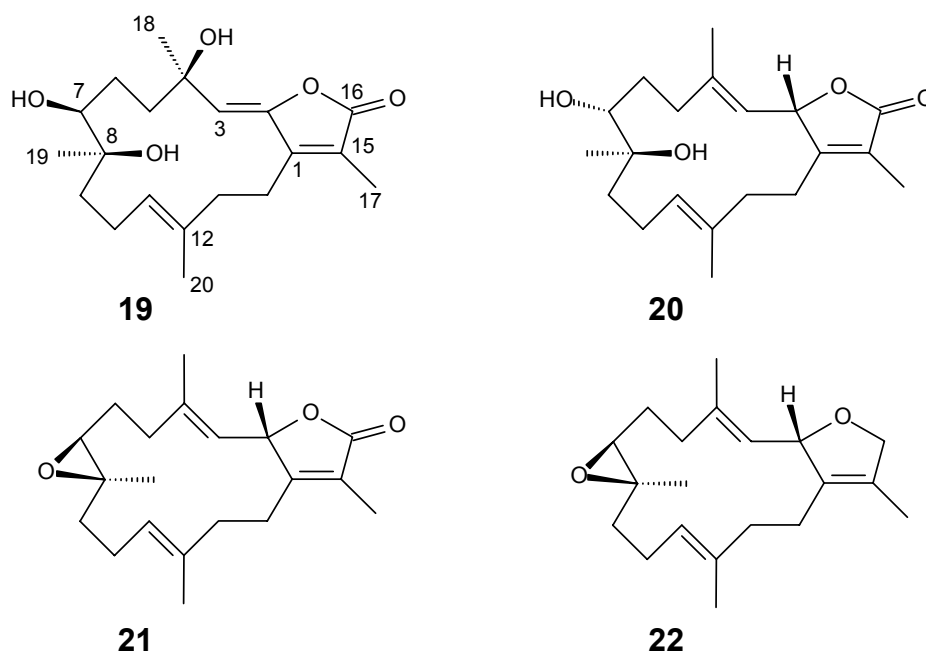
Eine Verbindung dieser Struktur ist bis jetzt nicht bekannt. Es handelt sich um das neue (+)-Polydactylid (4 β ,7 β ,8 β -trihydroxy-cembra-2(Z),11(E),1(15)(Z)-trien-16,2-olid).

Cembran-Diterpen **20** (Struktur von **20**, Abb. 64) unterscheidet sich nur geringfügig vom Cembranoid **16**. Aus dem ESI-MS ergibt sich eine um 14 a.m.u. niedrigere Molekülmasse (m/z 357 $[M+Na]^+$) und aus dem 1H - und ^{13}C -NMR-Spektren ist das Fehlen der Methoxygruppe ersichtlich. Die Strukturermittlung mittels 2D-NMR-Experimenten ergab, dass es sich um (+)-7 α ,8 β -Dihydroxydeepoxysarcophin handelt. (+)-7 α ,8 β -Dihydroxydeepoxysarcophin wurde hiermit zum ersten Mal aus der Natur isoliert. Es ist aber bereits durch präparative Fermentation von (+)-Sarcophin mit *Absidia glauca* ATCC 22752 bekannt [199]. Die NMR-Daten und der Drehwert des Fermentations-Produktes stimmen gut mit denen von Verbindung **20** überein.

Die 1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren von Cembran-Diterpen **21** (Struktur von **21**, Abb. 64) gleichen in weiten Teilen der Verbindung **20**. Es gibt nur geringe Abweichungen in Position 7, 8 und 19. Das Epoxid in Position 7,8 verursacht eine Hochfeldverschiebung des C-7 ($\Delta\delta = -1.3$), C-8 ($\Delta\delta = -15.5$) und C-19-Signals ($\Delta\delta = -6.5$). Die Struktur der Verbindung **21** kann somit als (+)-Sarcophin angegeben werden. Der Vergleich der NMR- und Drehwerte bestätigt dies [190-191]. (+)-Sarcophin wurde zuerst aus der Weichkoralle *Sarcophyton glaucum* (Rotes Meer, Ägypten) isoliert [190]. (+)-Sarcophin weist eine Vielzahl interessanter Bioaktivitäten auf. Dieses Cembranoid wirkt beispielsweise toxisch gegen Fische, Mäuse, Meerschweinchen und Ratten [200]. Es fungiert als Inhibitor mehrerer lebenswichtiger Enzyme, indem es vermutlich mit der Thiolgruppe des jeweiligen Enzyms reagiert [201]. So hemmt es bei Meerschweinchen kompetitiv die Cholinesterase im Ileum [200], die Na^+ -, K^+ -ATPasen-Aktivität des Rattenhirns [202] und nicht-kompetitiv reversibel die Phosphofructokinase aus der Skelettmuskulatur des Kaninchens [203]. Es zeigt auch im Meerschweinchen eine starke antiacetylcholinerge Wirkung im Ileum [200]. Außerdem erweist sich Sarcophin als

ein potentielles Antitumormittel, da es die durch TPA (12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetat) induzierte Transformation von JB6-Zellen der Maus inhibiert [199]. Zusätzlich wirkt es bei Mäusen antidepressiv [202].

Im ESI-Massenspektrum von **22** (Struktur von **22**, Abb. 64) beobachtet man ein im Vergleich zu **21** um 14 Masseneinheiten niedrigeres Molekülion $[M+Na]^+$ bei m/z 325. Der Vergleich der ^{13}C -NMR-Daten von **22** mit **21** zeigt vollkommene Übereinstimmung zwischen Position 5 und 14 des 14 gliedrigen Ringes allerdings Abweichungen im restlichen Molekül, besonders bei C-1 ($\Delta\delta = -29.0$) und C-16 ($\Delta\delta = -96.6$). Der Grund dafür ist die Methylengruppe an Position 16 in **22** an Stelle des Lacton-Carbonyl-Kohlenstoffatoms in **21**. Der HMBC-Crosspeak zwischen den Protonen der Methylgruppe 17 (δ 1.63 ppm) und C-16 (δ 78.4 ppm) bestätigt dies. Ausgehend von dem Vergleich des Drehwertes und der NMR-Daten handelt es sich bei dem Cembran-Diterpen **22** um das bekannte (+)-Sarcophytoxid [204], dessen absolute Konfiguration bereits durch Röntgenstrukturanalyse bestimmt wurde [205]. Zum ersten Mal wurde es aus der Weichkoralle *Sarcophyton* sp. (Okinawa) isoliert. (+)-Sarcophytoxid ist ein Kalzium-Antagonist. Die bei der Applikation von KCl ausgelöste Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur wird durch einen erhöhten Fluss von Ca^{2+} -Ionen in die Muskelzellen hervorgerufen. Dagegen führt die durch Verabreichung des α -Sympathomimetikums Norepinephrin ausgelöste Gefäßmuskulaturkontraktion zu einer Ausscheidung von interzellulär gespeicherten Ca^{2+} -Ionen. (+)-Sarcophytoxid und auch die bekannten Kalzium-Antagonisten Verapamil und D-600 kompensieren die KCl induzierte Kontraktion der Aorta des Kaninchens. Diese Beobachtung lässt darauf schließen, dass (+)-Sarcophytoxid den Kalzium-Fluss in die Muskelzellen der Aorta hemmt [205].

Abb. 64: Strukturen der aus *Sinularia polydactyla* isolierten Cembranoide **19-22**

	19 (CDCl ₃)		19 (DMSO-D ₆)	
Position	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
1	-	152.2	-	152.7
2	-	147.8	-	146.8
3	5.14 s	117.5	5.28 s	118.8
4	-	73.7	-	72.1
5	1.97/1.86	40.4	1.70	39.9
6	1.47	26.8	1.42/1.37	26.1
7	3.41 dd, 8.5/4.0 Hz	77.3	3.14	74.6
8	-	74.6	-	73.4
9	1.61/1.51	37.8	1.35	38.2
10	2.27/1.82	21.6	2.15/1.71	21.6
11	4.94 dd, 6.7/6.7 Hz	129.2	4.96 dd, 6.7/6.7 Hz	128.7
12	-	130.9	-	130.5
13	2.27/2.19	38.7	2.23/2.14	37.8
14	2.53	21.8	2.61/2.52	21.6
15	-	123.3	-	122.2
16	-	170.3	-	170.3
17	1.89 s	8.7	1.85 s	8.4
18	1.45 s	29.7	1.37 s	30.1

19	1.15 s	26.2	0.97 s	25.6
20	1.62 s	15.6	1.56 s	15.5
HO-4			4.69 s	
HO-7			3.88 d, 6.5 Hz	
HO-8			3.81 s	

Tab. 15: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (+)-Polydactylid (**19**) in CDCl_3 und $\text{DMSO}-\text{D}_6$

	20		21		21	
Position	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
1	-	162.6	-	162.2	-	133.2
2	5.55 dd, 10.3/1.6 Hz	79.1	5.55 d, 9.9 Hz	78.8	5.51	83.6
3	4.92 dd, 10.3/1.1 Hz	121.0	5.02 d, 9.9 Hz	120.6	5.20 d, 10.4 Hz	126.3
4	-	144.0	-	144.0	-	139.3
5	2.40 ddd, 12.7/12.7/3.0 Hz 2.20	35.5	2.35	37.4	2.32	37.7
6	1.87/1.53	27.0	1.86/1.65	25.2	1.87/1.62	25.3
7	3.47 dd, 11.3/1.6 Hz	72.8	2.65	61.5	2.70 t, 4.2 Hz	61.9
8	-	75.4	-	59.9	-	59.9
9	1.77	37.1	2.06 1.07 ddd, 13.0/12.9/2.9 Hz	39.0	2.08 0.97 dt, 13.1/3.0 Hz	39.8
10	2.18	23.6	2.22/1.90	23.3	2.23/1.88	23.5
11	4.98 m	125.2	5.11	124.9	5.08 m	123.6
12	-	134.8	-	135.5	-	136.9
13	2.16/2.03	36.5	2.15/1.99	36.4	1.92	36.7
14	2.65/2.11	26.8	2.71/2.06	27.5	2.52/1.68	26.1
15	-	122.9	-	122.9	-	127.9
16	-	174.8	-	175.0	4.47 s	78.4
17	1.81 s	9.0	1.83 s	8.9	1.63 s	10.2
18	1.90 s	16.4	1.87 s	16.1	1.80 s	15.6
19	1.18 s	24.2	1.26 s	17.7	1.25 s	16.9
20	1.64 s	15.4	1.60 s	15.5	1.58 s	15.1

Tab. 16: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (+)-7 α ,8 β -Dihydroxydeepoxysarcophin (**20**), (+)-Sarcophin (**21**) und (+)-Sarcophytoxid (**22**) in CDCl_3

2.2.10 Vier Cembran-Diterpene und ein Sesquiterpen aus der Koralle

Sarcophyton sp.

Beschreibung

Sarcophyton sp. (nebenstehendes Foto) (Familie Alcyoniidae) wird auch als Pilz-Lederkoralle bezeichnet, da ihr Aussehen eine pilzartige Form besitzt. Ihr kurzer Stamm ist polypenfrei. Die Polypen befinden sich nur auf dem braun-gelben „Teller“, der eine unregelmäßige Form hat. Die Polypen-



tentakeln sind fast weiß und können eingezogen werden. Im ausgezogenen Zustand bewegen sich die Tentakeln im Wasser. *Sarcophyton* sp. kann eine Größe von bis zu 60 cm erlangen und wird im Roten Meer oder tropischen Indopazifik gefunden.

Aus *Sarcophyton* sp. wurden bereits einige Cembran-Diterpene isoliert. In einer vor den Küsten von Ximao Island (Hainan Provinz, China) gesammelten *Sarcophyton* sp. wurden Sarcophytonolid A und B gefunden [206]. Des Weiteren wurden (1Z,2S,3E,7E,11Z,13R)-2,16-Epoxy-13-hydroxycembra-1(15),3,7,11-tetraen-20-carbonsäuremethylester und (1Z,2S,3E,7E,11Z,13R)-2,16-Epoxy-13-hydroxy-16-oxocembra-1(15),3,7,11-tetraen-20-carbonsäuremethylester aus *Sarcophyton* sp. (Nara Inlet, Hook Island, Queensland, Australien) isoliert [207]. *Sarcophyton* sp., die vor Hurghada, Rotes Meer, Ägypten gesammelt wurde, enthielt Sarcophytolid. Es zeigt eine breite antimikrobielle Aktivität gegenüber *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* und *Saccharomyces cerevisiae* [208]. Ein Epoxy-Cembran-Diterpen mit Antifoulingaktivität wurde in *Sarcophyton* sp. (Dok Mai East, Phuket) gefunden [209].

Wir untersuchten die *Sarcophyton* sp. aus dem Golf von Suez, Ägypten, die im Mai 2001 in einer Tiefe von 10-15 m gefunden wurde.

Aufarbeitungsschema

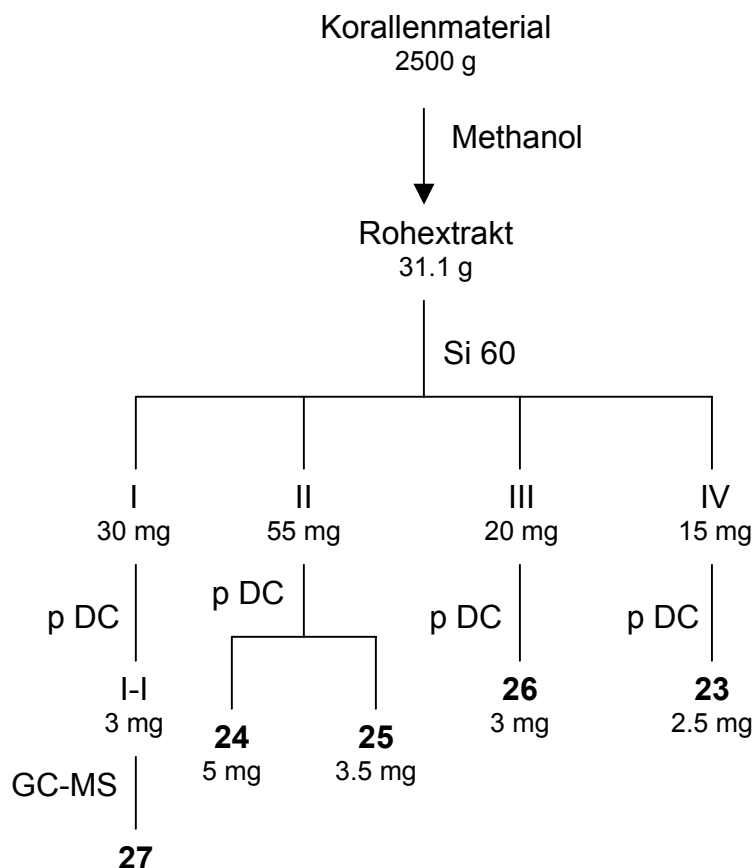


Abb. 65: Aufarbeitungsschema von *Sarcophyton* sp.

Strukturbestimmung

Das HR-ESI-Massenspektrum von Cembran **23** (Struktur von **23**, Abb. 66) zeigt, dass diese Verbindung ein Sauerstoffatom mehr besitzt als **22**. Der Vergleich der ^{13}C -Kernresonanzen von **23** mit **22** ergibt, dass sie bis auf Abweichungen bei C-1 ($\Delta\delta = +4.4$), C-15 ($\Delta\delta = +3.7$), C-16 ($\Delta\delta = -2.6$) und C-17 ($\Delta\delta = +46.6$) gut übereinstimmen. Dies lässt auf eine Veränderung in Position 17 schließen. Im ^{13}C -NMR-Spektrum von **23** ist bei 56.8 ppm eine Methylengruppe zu erkennen, deren Tieffeldverschiebung auf eine Verknüpfung mit einer Hydroxylgruppe hinweist. Im HMBC-Experiment zeigen sich Crosspeaks zwischen den Protonen dieser Methylengruppe (δ 4.26 ppm) und C-16 (δ 75.8 ppm), C-15 (δ 131.6 ppm) und C-1 (δ 137.6 ppm). Dies bestätigt, dass die Methylgruppe 17 in **22** durch eine hydroxylierte Methylengruppe in **23** ersetzt wurde.

Die relative Konfiguration an den Positionen 2, 7 und 8 wird durch ein ROESY-Experiment bestimmt. Das Proton an C-7 (δ 2.68 ppm) weist NOEs zum Proton an C-3 (δ 5.24 ppm) und dem Proton an C-11 (δ 5.09 ppm) auf. Letzteres zeigt

seinerseits einen Crosspeak zu den Protonen der Methylgruppe 19 (δ 1.25 ppm). Daraus folgt, dass sich H-3, H-7 und die Methylgruppe 19 auf der α -Seite des Moleküls befinden. Der ROESY Crosspeak zwischen dem Proton an C-2 (δ 5.58 ppm) und den Protonen der Methylgruppe 18 (δ 1.81 ppm) ergibt die β -Orientierung von H-2 und der Methylgruppe 18. Der Vergleich der ^{13}C -NMR-Resonanzen von C-2, C-7 und der Methylgruppe 19 mit denen vom (+)-Sarcophytoxid (**22**), dessen absolute Konfiguration bekannt ist, bestätigt die Information aus dem ROESY-Experiment. Die trans-Konfiguration der Doppelbindungen 3,4 und 11,12 wird durch die ^{13}C -Verschiebungen von C-18 (δ 15.6 ppm) und C-20 (δ 15.1 ppm) bestimmt [104, 173-174]. Die Struktur des neuen Cembran-Diterpens **23** kann somit als (+)-17-Hydroxysarcophytoxid angegeben werden. Seine Struktur ist dem bereits bekannten Lobophynin B aus der Koralle *Lobophytum schoedei* (Nangou-cho, Miyazaki, Japan), in dem die Hydroxygruppe an C-17 acetyliert ist, ähnlich [210].

Der Vergleich der ^{13}C -NMR-Daten von **24** (Struktur von **24**, Abb. 66) mit (+)-7 α ,8 β -Dihydroxydeepoxysarcophin (**20**) zeigt bis auf die Signale C-6 und C-7 gute Übereinstimmung. Für **24** werden zusätzlich zu den ^{13}C -Signalen von **20** zwei Signale, die zu einer Acetylgruppe (δ 20.9 und 170.6 ppm) gehören, beobachtet. Die Position der Acetylgruppe an C-7 wird durch die HMBC-Crosspeaks zwischen dem Proton an C-7 (δ 4.98 ppm) und dem Carbonyl-Kohlenstoffatom der Acetylgruppe (δ 170.6 ppm), das wiederum mit den Protonen der Methylgruppe der Acetylgruppe (δ 2.08 ppm) koppelt, bestätigt. Mithilfe des ROESY-Experiments wird die relative Konfiguration von **24** bestimmt. Die Crosspeaks des Protons an C-7 mit dem Proton an C-3 (δ 4.80 ppm) und dem Proton an C-9 (δ 1.82 ppm) weisen darauf hin, dass sich H-3, H-7 und H-9 (δ 1.82 ppm) auf der α -Seite von **24** befinden. Die β -Orientierung von H-2, H-9 (δ 1.59 ppm) und den Methylgruppen 18 und 19 zeigt sich durch die NOEs zwischen dem Proton an C-9 (δ 1.59 ppm) und den Protonen der Methylgruppe 19 (δ 1.07 ppm) sowie zwischen dem Proton an C-2 (δ 5.55 ppm) und den Protonen der Methylgruppe 18 (δ 1.92 ppm). Die 3*E*- und 11*E*-Konfiguration wird durch die ^{13}C -Resonanzen der Methylgruppen 18 (δ 16.2 ppm) und 20 (δ 15.1 ppm) festgelegt [104, 173-174].

Es handelt sich um (+)-7 β -Acetoxy-8 α -hydroxydeepoxysarcophin, das zum ersten Mal aus der Natur isoliert werden konnte. Bekannt ist es bereits aus der Umsetzung

von (+)-Sarcophin mit 1% p-Toluolsulfonsäure in Essigsäure [191]. Der Vergleich der ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Daten und des Drehwertes mit denen der synthetisierten Verbindung aus der Literatur zeigt eine gute Übereinstimmung.

Cembran **25** besitzt dieselbe Molekülmasse wie **20** und zeigt im ^{13}C -NMR-Spektrum kaum Veränderungen. Nur die ^{13}C -Resonanzen von C-8, C-9 und der Methylgruppe 19 weisen im Vergleich zu denen in **20** leichte Tieffeldverschiebungen von $\Delta\delta$ 2.7, 2.0 und 2.3 ppm auf. Im ^1H -NMR-Spektrum ist ebenso eine Tieffeldverschiebung des Protons an C-7 (δ 3.64 ppm) und der Protonen der Methylgruppe 19 (δ 1.52 ppm) im Vergleich zu denen in **20** (δ 3.47 und 1.18 ppm) auffällig. Die Kopplungskonstanten des Protons an C-7 in **20** (dd, 11.3, 1.6 Hz) verändert sich deutlich in **25** (dd, 9.9, 9.8 Hz). Dies und die Auswertung der 2D-NMR-Spektren ergab, dass **25** ein Isomer zu **20** ist, das in Position 7 und 8 eine andere relative Konfiguration besitzt. Durch den Vergleich der ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Daten und des Drehwertes mit den Werten aus der Literatur steht fest, dass es sich bei Verbindung **25** um (+)-7 β ,8 α -Dihydroxydeepoxysarcophin handelt. (+)-7 β ,8 α -Dihydroxydeepoxysarcophin ist aus der Koralle *Sarcophyton trocheliophorum* (Kenting, Taiwan) bekannt und wirkt cytotoxisch gegen die Krebszelllinie P-388 mit einem ED_{50} -Wert von 3.27 $\mu\text{g/mL}$ [110].

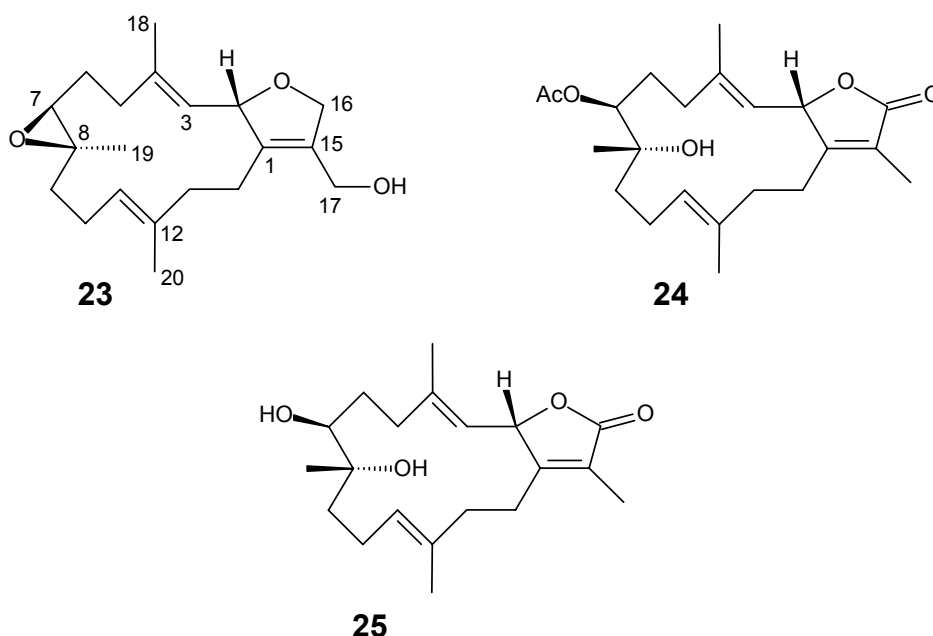


Abb. 66: Strukturen der aus *Sarcophyton* sp. isolierten Cembranoide **23-25**

	23		24		25	
Position	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
1	-	137.6	-	163.5	-	162.5
2	5.58	83.8	5.55 d, 10.3 Hz	78.8	5.54 d, 10.1 Hz	79.0
3	5.24 d, 10.0 Hz	125.4	4.80 d, 10.3 Hz	122.2	4.95 d, 10.1 Hz	121.5
4	-	140.0	-	142.3	-	143.3
5	2.32	37.7	2.15 1.91	35.3	2.43 ddd, 13.3/13.3/3.0 Hz 2.23	35.4
6	1.86/1.62	25.3	1.88/1.82	24.8	2.10/1.58	27.9
7	2.68 dd, 4.1/3.9 Hz	61.9	4.98 d, 10.9 Hz	76.1	3.64 dd, 9.9/9.8 Hz	72.6
8	-	59.8	-	75.0	-	78.1
9	2.10/0.98	39.8	1.82/1.59	37.3	2.28/1.95	39.1
10	2.21/1.87	23.5	2.23/2.05	23.7	2.38/2.23	24.8
11	5.09 dd, 9.8/ 5.8 Hz	123.9	4.92	124.2	5.07 dd, 6.9/6.6 Hz	124.0
12	-	136.4	-	135.9	-	135.0
13	1.91	36.8	2.16/1.95	36.5	2.10	36.3
14	2.59/1.72	26.2	2.79/2.50	25.9	2.58/2.22	26.0
15	-	131.6	-	122.2	-	122.9
16	4.47/4.72	75.8	-	174.9	-	174.6
17	4.26 s	56.8	1.82 s	8.9	1.82 s	9.0
18	1.81 s	15.6	1.92 s	16.2	1.86 s	16.0
19	1.25 s	16.9	1.07 s	24.8	1.52 s	26.5
20	1.57 s	15.1	1.64 s	15.1	1.65 s	15.8
CH ₃ COO-	-	-	2.08 s	20.9	-	
CH ₃ COO-	-	-	-	170.6	-	

Tab. 17: ¹H- und ¹³C-NMR-Daten von (+)-17-Hydroxysarcophytoxid (**23**), (+)-7 β -Acetoxy-8 α -hydroxydeepoxysarcophin (**24**) und (+)-7 β ,8 α -Dihydroxydeepoxysarcophin (**25**) in CDCl₃

Im ¹³C-NMR-Spektrum von **26** zeigen sich typische Signale für ein Cembran-Diterpen, das im Vergleich zum ¹³C-NMR-Spektrum von **22** zwei Doppelbindungs-Tiefeldsignale mehr aufweist (C-11 (δ 123.9 ppm), C-3 (δ 125.7 ppm), C-7 (δ 125.5 ppm), C-15 (δ 127.1 ppm), C-8 (δ 133.2 ppm), C-1 (δ 133.9 ppm), C-12 (δ 135.4 ppm) und C-4 (δ 140.4 ppm)), die auf vier Doppelbindungen in **26** schließen lassen. Der Vergleich der Massenspektren von **26** mit **22** ergibt, dass **26** ein um 16 Masseneinheiten niedrigeres Molekülion als **22** besitzt. Dies deutet darauf

hin, dass das Epoxid in Position 7,8 in **22** durch eine Doppelbindung in Position 7,8 in **26** ersetzt ist. Die HMBC-Crosspeaks zwischen den Protonen der Methylgruppe 19 (δ 1.56 ppm) und C-8 (2J -Kopplung), C-7 und C-9 (δ 40.3 ppm) bestätigen dies. Die trans-Konfiguration der Doppelbindungen 3,4, 7,8 und 11,12 wird durch die chemische Verschiebung der ^{13}C -NMR-Singale der Methylgruppen 18 (δ 14.9 ppm), 19 (δ 15.0 ppm) und 20 (δ 15.5 ppm) bewiesen [104, 173-174]. Die Auswertung der ^1H , ^1H -COSY-, HMBC- und HMQC-Experimente ergab, dass es sich um Sarcophytonin A handelt, das bereits aus der Koralle *Sarcophyton glaucum* (Ishigaki Island, Okinawa) isoliert wurde. Der Drehwert des Sarcophytonins A von Kobayashi stimmt gut mit dem von **26** überein [193]. Allerdings gaben weder Kobayashis noch unser ROESY-Spektrum Auskunft über die Konfiguration an C-2. Bowden *et al.* untersuchte die Konfiguration an C-2 durch Reduktion von Sarcophytoxid mit Zn/Cu [204, 211]. Für (2*R*)-Sarcophytonin A erhielten sie einen negativen Drehsinn und für (2*S*)-Sarcophytonin A einen positiven. Allerdings variierte der Wert zwischen $+239^\circ$ und -210° . Nachdem **26** einen Drehwert von -90° besitzt, handelt es sich um eine Mischung aus (+)- und (-)-Form, wobei (-)-(2*R*)-Sarcophytonin A überwiegt.

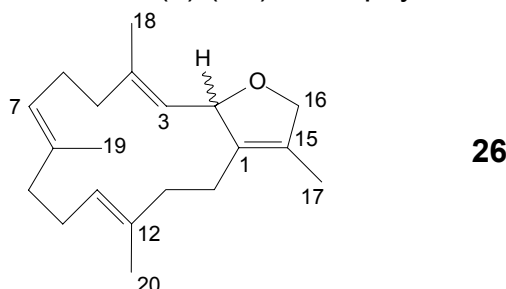


Abb. 67: Struktur des aus *Sarcophyton* sp. isolierten Sarcophytonins A (**26**)

Position	^1H	^{13}C	Position	^1H	^{13}C
1	-	133.9	11	4.98 dd, 7.5/7.1 Hz	123.9
2	5.48 m	83.9	12	-	135.4
3	5.06 d, 10 Hz	125.7	13	1.91	37.1
4	-	140.4	14	2.35/1.84	25.8
5	2.28/2.15	39.1	15	-	127.1
6	2.35/2.05	24.7	16	4.47 m	78.3
7	4.83	125.5	17	1.62 s	10.1
8	-	133.2	18	1.67 s	14.9
9	2.10/1.89	40.3	19	1.56 s	15.0
10	2.03	23.4	20	1.58 s	15.5

Tab. 18: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von Sarcophytonin A (**26**) in CDCl_3

Das ^{13}C -NMR-Spektrum des Sesquiterpens **27** lässt sich in zwei Bereiche einteilen. Die sechs Tieffeldsignale (C-1, C-2, C-3, C-4, C-11, C-12), die drei Doppelbindungen bilden, und dem Alkylbereich, zu dem drei Methyl- (C-13, C-14, C-15), drei Methylen- (C-6, C-8, C-9), zwei Methingruppen (C-5, C-7) und ein quartäres Kohlenstoffatom (C-10) gehören. Das Doppelbindungsproton an C-1 (δ 5.80 ppm) zeigt im $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Experiment Crosspeaks zu den Doppelbindungsprotonen an C-2 (δ 4.87 ppm). Die Position dieser Ethylengruppe und der Methylgruppe 14 an C-10 wird durch die HMBC-Crosspeaks der Protonen der Methylgruppe 14 (δ 0.98 ppm) mit C-1 (δ 150.3 ppm), C-10 (δ 39.8 ppm), C-9 (δ 39.9 ppm) und C-5 (δ 52.7 ppm) bestätigt. Das Proton an C-5 (δ 2.00 ppm) koppelt im $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Spektrum mit den Protonen an C-6 (δ 1.55 ppm), welche einen Crosspeak zu dem Proton an C-7 (δ 1.92 ppm) zeigen. Letzteres weist einen Crosspeak zu den Protonen an C-8 (δ 1.67 ppm) und diese zu den Protonen an C-9 (δ 1.44 ppm) auf, wodurch der 6-Ring von **27** geschlossen wird. Die zwei Isopropylidengruppen an C-5 und C-7 werden durch die HMBC-Crosspeaks der Protonen der Methylgruppe 15 (δ 1.69 ppm) zu C-3 (δ 112.0 ppm), C-4 (δ 147.7 ppm) und C-5 sowie den Protonen der Methylgruppe 13 (δ 1.73 ppm) zu C-12 (δ 108.2 ppm), C-11 (δ 150.4 ppm) und C-7 (δ 45.7 ppm) bewiesen. Durch Vergleich der ^1H -NMR-, ^{13}C -NMR-Daten und des Drehwertes mit den Literaturangaben [212-214], ergibt sich, dass es sich bei dem Sesquiterpen **27** um $(-)\text{-}\beta\text{-Elemen}$ handelt. Eine GC-MS-Messung und der Vergleich mit der Datenbank bestätigt dies. $(-)\text{-}\beta\text{-Elemen}$ wurde bereits aus der Koralle *Lobophytum* sp. (Cairns, Great Barrier Riff) isoliert [213]. Es wirkt mit einem ED_{50} -Wert von 0.92 $\mu\text{g/mL}$ cytotoxisch gegen die Krebszelllinie P-388 [92].

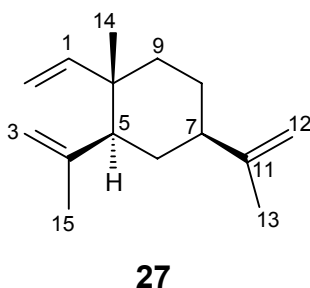


Abb. 68: Struktur des aus *Sarcophyton* sp. isolierten $(-)\text{-}\beta\text{-Elemens}$ (**27**)

Position	^1H	^{13}C	Position	^1H	^{13}C
1	5.80 dd, 17.4/10.9 Hz	150.3	9	1.44	39.9
2	4.87	109.2	10	-	39.8
3	4.80 s 4.57 s	112.0	11	-	150.4
4	-	147.7	12	4.69 d, 7.6 Hz	108.2
5	2.00	52.7	13	1.73 s	21.1
6	1.55	32.9	14	0.98 s	16.6
7	1.92	45.7	15	1.69 s	24.8
8	1.67	26.8			

Tab. 19: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (-)- β -Elemen (**27**) in CDCl_3

2.2.11 Fünf Furanocembranoide, ein Furanosesquiterpen und Sterole aus der Koralle *Sinularia asterolobata*

Beschreibung

Sinularia asterolobata (nebenstehendes Foto), die zur Familie Alcyoniidae gehört, lebt im Indo-Pazifik in Tiefen bis zu 20 m. Sie hat einen kräftigen polypenfreien Stamm, der sich 2-3fach teilt und sich weiter in lange ausgezogene, Polypen besitzende, Äste bzw. Finger verzweigt. Da ihr Aussehen an einen Baum erinnert, wird sie auch Baum-Lederkoralle genannt. *Sinularia asterolobata* hat eine elfenbein bis hell lila Farbe.



Im Mai 2001 wurde die zu untersuchende *Sinularia asterolobata* in der Nähe von Bali, Indonesien in einer Tiefe von 10-15 m gesammelt. Bislang wurden noch keine Untersuchungsergebnisse über Sekundärmetabolite aus *Sinularia asterolobata* veröffentlicht.

Aufarbeitungsschema

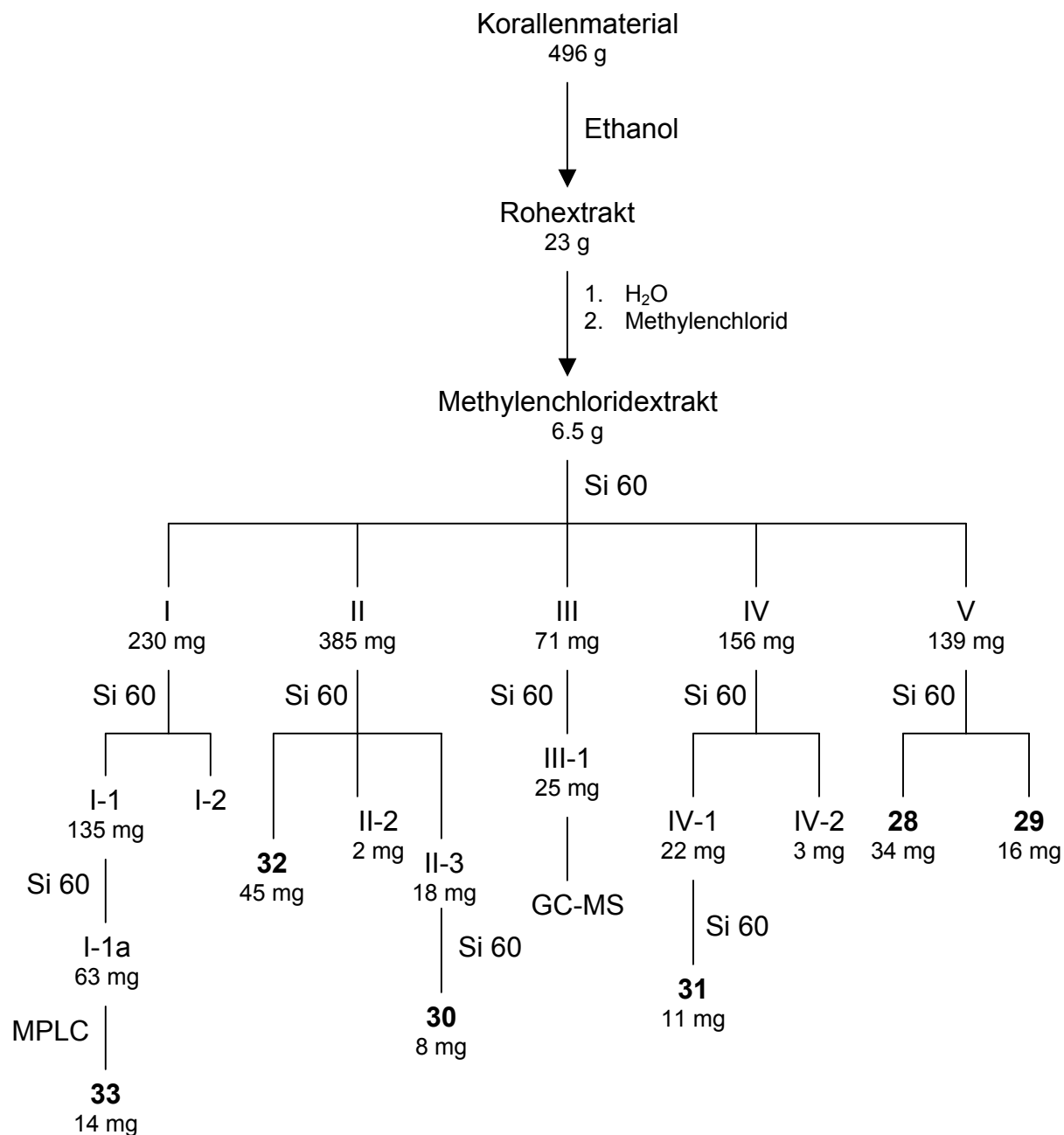


Abb. 69: Aufarbeitungsschema von *Sinularia asterolobata*

Strukturbestimmung

Im ^1H -NMR-Spektrum von Furanocembranoid **28** (Struktur von **28**, Abb. 71) ist bei 7.23 ppm ein Singulett zu beobachten. Dieses Proton an C-5 zeigt im HMBC-Experiment Crosspeaks zu C-3 (δ 115.4 ppm), C-4 (δ 130.2 ppm) und C-6 (δ 149.2 ppm). Daraus ergibt sich als Strukturelement ein 2,5-Dihydrofuranring. Das Singulett

des Protons an C-7 bei 5.09 ppm weist keinen Kopplungspartner auf. Die HMBC-Crosspeaks zwischen dem Proton an C-7 und C-5 (δ 139.3 ppm), C-6, C-8 (δ 69.6 ppm) und C-9 (δ 40.3 ppm) ergeben, dass eine Doppelbindung zwischen Position 6 und 7 liegt. Die ^{13}C -Resonanz von C-8 deutet auf eine Hydroxyfunktion an dieser Position hin. Dies wird durch Crosspeaks zwischen dem Proton der Hydroxygruppe (δ 4.93 ppm) und C-8, C-9, C-7 und C-19 (δ 31.1 ppm) bewiesen. Daraus ergibt sich, dass die Methylgruppe 19 an C-8 gebunden ist. Die Protonen an C-9 (δ 2.88/1.81 ppm) zeigen im $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Spektrum Crosspeaks zum Proton an C-10 (δ 4.62 ppm). Die HMBC-Crosspeaks des Protons an C-10 mit C-11 (δ 76.5 ppm), C-12 (δ 127.5 ppm) und C-20 (δ 167.7 ppm) weisen auf einen γ -Lacton-Ring in dieser Position hin. Die Doppelbindung 12,13 wird durch HMBC-Crosspeaks des Protons an C-11 (δ 5.27 ppm) zu C-12 und C-13 (δ 147.1 ppm) festgelegt. Das Proton an C-13 (δ 6.94 ppm) weist im $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Experiment Crosspeaks zu den Protonen an C-14 (δ 2.47/2.13 ppm) auf, welche Crosspeaks zum Proton an C-1 (δ 2.13 ppm) zeigen. Letzteres koppelt außerdem zu den Protonen an C-2 (δ 2.29/1.82 ppm). Der HMBC-Crosspeak zwischen den Protonen an C-2 und dem Ketal-Kohlenstoffatom C-3 schließt den Ring. Im $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Spektrum sind Kreuzsignale zwischen den Protonen der Methylgruppe 22 (δ 1.01 ppm, t, 7.0 Hz) und den Protonen an C-21 (δ 3.15/3.08 ppm) zu erkennen. Es handelt sich um eine Ethoxyfunktion, die an C-3 gebunden ist. Die Crosspeaks im HMBC-Experiment zwischen C-3 und den Protonen an C-21 bestätigen dies. Die Protonen der Methoxygruppe bei 3.58 ppm weisen im HMBC-Spektrum einen Crosspeak zu dem Carbonyl-Kohlenstoffatom C-18 (δ 161.9 ppm) auf, das seinerseits mit dem Proton an C-5 koppelt. Die Zuordnung der Acetylgruppe an C-11 wird durch die HMBC-Crosspeaks des Carbonyl-Kohlenstoffatoms (δ 170.0 ppm) der Acetylgruppe zu den Protonen der Methylgruppe (δ 2.01 ppm) der Acetylgruppe und dem Proton an C-11 bestätigt. Auffallend sind im $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Experiment die Crosspeaks zwischen den Protonen der Methylgruppe 17 (δ 1.55 ppm) und den Doppelbindungsprotonen an C-16 (δ 4.60/4.49 ppm). Die Protonen der Methylgruppe 17 zeigen im HMBC-Spektrum Crosspeaks zu C-16 (δ 112.0 ppm), C-15 (δ 147.6 ppm) und C-1 (δ 40.3 ppm), die die Verknüpfung der Isopropylidengruppe mit C-1 beweisen.

Die relative Konfiguration wird mithilfe eines ROESY-Experimentes bestimmt. Die Crosspeaks zwischen dem Proton an C-5 und dem Proton an C-7 ergeben die cis-

Konfiguration der Doppelbindung 6,7. Die Protonen der Methylgruppe 19 weisen NOEs zum Proton an C-7 und zu den Protonen an C-21 der Ethoxygruppe auf. Dies zeigt, dass die Methylgruppe 19 und die Ethoxygruppe an C-3 α -orientiert sind. Die Crosspeaks zwischen dem Proton an C-10 und dem Proton der Hydroxygruppe an C-8, der Acetylgruppe an C-11 und der Methylgruppe 17 sprechen für eine β -Konfiguration von H-10, der Acetylgruppe an C-11 und der Isopropylidengruppe an C-1. Außerdem bestätigt die Kopplungskonstante im Bereich von $J_{10,11} \approx 0$ Hz zwischen den Protonen an C-10 und an C-11 einen Diederwinkel von 90° , der auf eine pseudo-trans-Stellung von H-10 zu H-11 deutet [198]. Der NOE zwischen dem Proton an C-13 und dem Proton an C-11 weist auf eine (Z)-Konfiguration der Doppelbindung 12,13 hin.

Das HR-ESI-Massenspektrum von **28** zeigt ein Molekülion bei m/z 499.1923 ($[M+Na]^+$) und bestätigt somit, dass es sich um das neue (–)-3 α -Ethoxyfuran-cembranoid handelt, das allerdings ein Artefakt der Ethanol-Aufarbeitung des Korallenextraktes ist.

Das Proton an C-5 (δ 6.46 ppm) im Furanocembranoid **29** (Struktur von **29**, Abb. 71) zeigt im HMBC-Spektrum Crosspeaks zu C-3 (δ 160.3 ppm), C-4 (δ 114.9 ppm) und C-6 (δ 149.4 ppm), die einen dreifachsubstituierten Furanring bilden. Das ^{13}C -NMR-Signal von C-7 (δ 74.4 ppm) in **29** weist durch seine Verschiebung auf eine Acetylgruppe an C-7 hin. Bewiesen wird dies durch die HMBC-Crosspeaks des Carbonyl-Kohlenstoffatoms der Acetylgruppe (δ 170.2 ppm) zu den Protonen der Methylgruppe der Acetylgruppe (δ 2.16 ppm) und dem Proton an C-7 (δ 6.25 ppm). Eine weitere Auswertung der 2D-NMR-Experimente ergibt, dass der Rest der Struktur von **29** sich nicht von Struktur **28** unterscheidet. Das HR-ESI-Massenspektrum mit einem Molekülpeak bei m/z 513.1735 $[M+Na]^+$ bestätigt dies.

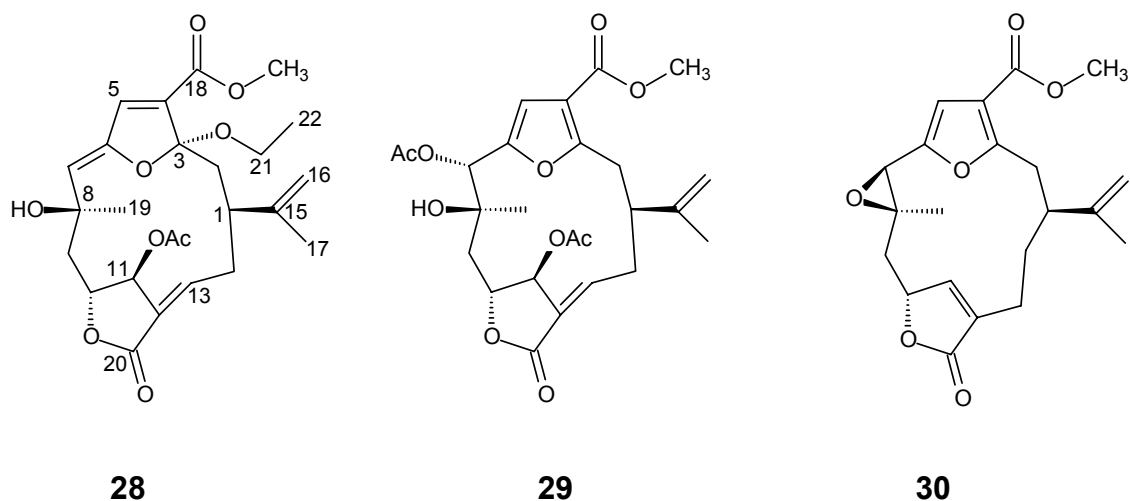
Durch das ROESY-Experiment kann die relative Konfiguration von **29** ermittelt werden. Die Crosspeaks des Protons an C-10 (δ 4.81 ppm) zu dem Proton an C-7 und dem Proton an C-9 (δ 1.91 ppm) sowie der Crosspeak zwischen dem Proton an C-7 zu dem an C-9 (δ 1.91 ppm) ergeben, dass die Protonen an C-10, C-7 und C-9 (δ 1.91 ppm) β -konfiguriert sind. Das Proton an C-1 (δ 2.93 ppm) korreliert mit den Protonen der Methylgruppe der Acetylgruppe an C-7, die zusätzlich einen Crosspeak zu dem Proton an C-5 besitzen. Das Proton an C-5 zeigt einen NOE zu den

Protonen der Methylgruppe 19 (δ 1.20 ppm), die einen Crosspeak zu dem Proton an C-11 (δ 5.26 ppm) aufweisen. Daraus ergibt sich für die Protonen an C-1, C-11, der Methylgruppe 19 und der Acetylgruppe an C-7 eine α -Orientierung. Die pseudo-trans-Ständigkeit der Protonen an C-10 und C-11 wird durch die Kopplungskonstante $J_{10,11} \approx 0$ Hz bestätigt [198]. Die Doppelbindung 12,13 ist (Z)-konfiguriert, was durch den NOE zwischen den Protonen an C-11 und C-13 bewiesen wird. Es handelt sich bei **29** um das neue Furancembranoid (–)-Danielid.

Der Vergleich der ^{13}C -NMR-Daten von Furanocembranoid **30** mit (–)-11 β ,12 β -Epoxy pukalid (**14**) zeigt bis auf die Signale C-11 und C-12 gute Übereinstimmung. Im Massenspektrum beobachtet man ein im Vergleich zu **14** um 16 Masseneinheiten niedrigeres Molekülion bei m/z 372. Die ^{13}C -Resonanzen von C-11 (δ 148.0 ppm) und C-12 (δ 137.7 ppm) und das Proton an C-11 bei 7.06 ppm deuten auf eine Doppelbindung zwischen Position 11 und 12 hin. Weiterhin sind im HMBC-Spektrum die Kreuzsignale vom Proton an C-11 zu C-10 (δ 77.8 ppm), C-12 und C-20 (δ 174.0 ppm) sichtbar. Daher handelt es sich bei der Verbindung **30** um (+)-Pukalid. Der Vergleich der ^1H -NMR-, ^{13}C -NMR-Daten und des Drehwertes mit den Literaturdaten bestätigt dies [198]. (+)-Pukalid wurde zuvor bereits aus der Weichkoralle *Sinularia abrupta* (Blowhole, Oahu) isoliert [215] und die absolute Konfiguration durch Röntgenstrukturanalyse bestimmt [182]. (+)-Pukalid wirkt als Antifoulingagens. Es unterbricht die Metamorphose der Larve *Balanus amphitrite* zum festsitzenden Krebs und verhindert dadurch den Befall durch sie [216]. Ebenso weist (+)-Pukalid einen Schutz gegen marine Fraßfeinde auf. Erhält der Zahnkärpfling *Fundulus heteroclitus* (+)-Pukalid in Dosen größer als 0.05 mg/g seines Körpergewichtes, muss er sich übergeben [217].



Abb. 70: Festsitzender Krebs auf Krabbenpanzer

Abb. 71: Strukturen der aus *Sinularia asterolobata* isolierten Furanocembranoide **28-30**

	28 (DMSO-D ₆)		29 (CDCl ₃)		30 (CDCl ₃)	
Position	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
1	2.13	40.3	2.93	42.3	3.53	40.6
2	2.29 dd, 14.3/7.6 1.82	38.0	3.40 2.73 dd, 15.3/9.3	30.3	3.03 dd, 18.3/12.8 Hz 2.85 dd, 18.3/2.6 Hz	32.4
3	-	115.4	-	160.3	-	160.3
4	-	130.2	-	114.9	-	113.8
5	7.23 s	139.3	6.46 s	108.4	6.35 s	106.5
6	-	149.2		149.4	-	148.2
7	5.09 s	118.2	6.25 s	74.4	4.05 s	55.0
8	-	69.6	-	74.3	-	57.0
9	2.88 1.81	40.3	2.13 1.91 dd, 15.4/6.8	39.7	2.49 dd, 14.8/4.1 Hz 2.14 dd, 14.8/2.9 Hz	40.0
10	4.62	78.9	4.81	78.9	5.14 s	77.8
11	5.27 s	76.5	5.26 s	76.4	7.06 s	148.0
12	-	127.5	-	127.6	-	137.7
13	6.94	147.1	6.77 dd, 9.6/5.7 Hz	148.8	2.38	22.8
14	2.47/2.13	31.8	3.38/2.37	30.6	1.79/1.01	32.5
15	-	147.6	-	147.0	-	145.9
16	4.60 s 4.49 s	112.0	4.88/4.83	110.7	5.18 s 4.90 s	113.2
17	1.55 s	17.9	1.81 s	21.7	1.76 s	18.7

18	-	161.9	-	163.7	-	164.2
19	1.26 s	31.1	1.20 s	22.8	0.99 s	19.9
20	-	167.7	-	167.5	-	174.0
CH ₃ -O	3.58 s	51.3	3.78 s	51.5	3.76 s	51.3
21	3.15/3.08	57.6	-	-	-	-
22	1.01 t, 7.0 Hz	15.1	-	-	-	-
CH ₃ -COO-7	-	-	-	170.2	-	-
CH ₃ -COO-7	-	-	2.16 s	21.0 ^{a)}	-	-
CH ₃ -COO-11	-	170.0	-	170.5	-	-
CH ₃ -COO-11	2.01 s	20.7	2.04 s	20.9 ^{a)}	-	-
HO-8	4.93 s	-	-	-	-	-

Tab. 20: ¹H- und ¹³C-NMR-Daten von (-)-3 α -Ethoxyfuranembranoid (**28**), (-)-Danielid (**29**) und (+)-Pukalid (**30**) in DMSO-D₆ und CDCl₃; ^{a)} Zuordnungen austauschbar

Das Furanocembran **31** (Struktur von **31**, Abb. 72) zeigt ähnliche NMR chemische Verschiebungen wie Pukalid (**30**). Aus dem Massenspektrum ergibt sich eine um 58 Einheiten erhöhte Molekülmasse (m/z 430) und aus dem ¹³C-NMR-Spektrum ist die Anwesenheit einer zusätzlichen Acetylgruppe (δ 170.5/170.3 ppm, 20.6 ppm, eine Zuordnung der ¹³C-NMR-Signale von C-20 und CH₃COO-13 ist nicht möglich) ersichtlich. Die Verknüpfung der Acetylgruppe an Position 13 lässt sich über die Korrelation des Protons an C-13 (δ 5.81 ppm) und des Carbonyl-Kohlenstoffatoms der Acetylgruppe aus dem HMBC-Spektrum entnehmen. Unterstützt durch den Vergleich der spektralen Daten und des Drehwertes mit den Literaturwerten kann **31** als (+)-13 α -Acetoxypukalid identifiziert werden. (+)-13 α -Acetoxypukalid wurde das erste Mal in der Weichkoralle *Sinularia polydactyla* (Palm Islands, Australien) gefunden [198]. Es zeigt *in vitro* gegen einen chloroquinresistenten Stamm von *Plasmodium falciparum* mäßige Aktivität mit einem IC₅₀ von 109 μ M [218] und Antifoulingaktivität gegenüber Cypris-Larven *Balanus amphitrite* mit einem MIC von 0.1 ppm. Damit ist (+)-13 α -Acetoxypukalid aktiver als die effizienten Antifoulingmittel Kupfersulfat und Bistributylzinnoxid und könnte eine neue Möglichkeit zur Bekämpfung des „Biofoulings“ darstellen. Die umweltschädigende Verbindung TBT, die weltweit gegen den unerwünschten Aufwuchs vor allen an Schiffen durch z. B. Bakterien, Algen, Seepocken, Muscheln und Röhrenwürmer ihre Verwendung findet, wird in den nächsten Jahren verboten. Deswegen sucht man alternative Substanzen, um die Bildung von komplexen Schichten verhindern zu können und beispielsweise Oberflächenkorrosionen von Schiffen, Kraftwerkskühlsystemen und Rohrleitungen,

die im Seewasser sind, zu unterbinden. Außerdem verringert der Bewuchs bei Schiffen die Geschwindigkeit, wodurch der Kraftstoffverbrauch steigt, was letztendlich zu höheren Emissionen von Treibhausgasen und Zusatzkosten führt [220]. Die Antifoulingaktivität von (+)-13 α -Acetoxypukalid gegen die Blaue Muschel *Mytilus edulis* ist nur gering [219].

Aus dem Massenspektrum erhält man für **32** eine Molekülmasse von m/z 430 ($[M]^{+}$). Die Auswertung der NMR-Spektren ergibt, dass **32** im Vergleich zu **29** ein Epoxid zwischen Position 7 und 8 besitzt. Dies bestätigen die ^{13}C -Resonanzen von C-7 und C-8 bei 54.3 und 56.7 ppm sowie die HMBC-Crosspeaks der Protonen der Methylgruppe 19 (δ 1.19 ppm) mit C-7, C-8 und C-9 (δ 40.5 ppm). Die Struktur des Furanocembranoids **32** ergibt sich aus dem Vergleich der spektroskopischen und physikalischen Daten mit den Literaturwerten [198]. Verbindung **32** wurde das erste Mal aus der Weichkoralle *Sinularia polydactyla* (Palm Islands, Australien) isoliert, besitzt fischabweisende Eigenschaften ab einer Konzentration von 2% Trockengewicht und verhindert somit, dass die Koralle von Fischen gefressen wird. In den Spitzen der Polypen beträgt die Konzentration an **32** sogar 12 Prozent [221].

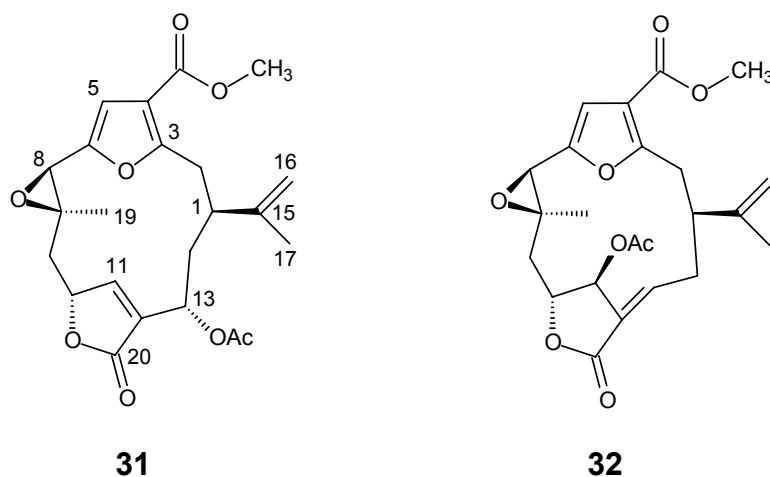


Abb. 72: Strukturen der aus *Sinularia asterolobata* isolierten Furanocembranoide **31-32**

	31		32	
Position	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
1	3.93	36.8	2.92	41.0
2	3.02 dd, 18.6/12.8 Hz 2.86 dd, 18.6/2.7 Hz	34.2	3.60 dd, 15.5/4.9 Hz 2.99 dd, 15.5/5.2 Hz	30.6
3	-	160.0	-	160.0
4	-	114.1	-	114.3
5	6.37 s	106.8	6.39 s	108.0
6	-	148.1	-	147.7
7	4.06 s	54.9	3.94 s	54.3
8	-	56.7		56.7
9	2.51 2.16	39.8	2.54 dd, 15.3/3.6 Hz 1.88 dd, 15.3/3.0 Hz	40.5
10	5.21	77.6	4.60	80.8
11	7.26 s	150.9	5.59 s	73.9
12	-	134.9	-	123.7
13	5.81 d, 6.2 Hz	68.8	6.68 dd, 11.4/2.4 Hz	152.3
14	2.49/1.25	35.9	4.01/2.66	30.6
15	-	148.9	-	144.9
16	4.97 s 4.85 s	110.9	4.86 s 4.61	112.6
17	1.86 s	20.7	1.72 s	23.3
18	-	164.0	-	163.9
19	0.94 s	19.7	1.19 s	21.3
20	-	170.5 ^{a)}	-	168.2
CH ₃ -O	3.76 s	51.4	3.76 s	51.4
CH ₃ -COO-11	-	-	-	170.6
CH ₃ -COO-11	-	-	2.05 s	21.0
CH ₃ -COO-13	-	170.3 ^{a)}	-	-
CH ₃ -COO-13	1.97 s	20.6	-	-

Tab. 21: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (+)-13 α -Acetoxypukalid (**31**) und Furanocembranoid **32** in CDCl_3 ; ^{a)} Zuordnung austauschbar

Im ^1H -NMR-Spektrum des Furanosesquiterpens **33** sind die zwei am stärksten tieffeldverschobenen Singulett bei 7.88 und 6.49 ppm Protonen eines

zweifachsubstituierten Furanrings. Beide zeigen im HMBC-Experiment Crosspeaks zu den zwei quartären Kohlenstoffatome C-3 (δ 120.3 ppm) und C-5 (δ 154.6 ppm). An die zwei Protonen des Furanrings schließt im ^1H -NMR-Spektrum der Doppelbindungsbereich mit 5 Protonen an. Das Singulett des Doppelbindungsprotons an C-1' (δ 6.04 ppm) zeigt im HMBC-Experiment Crosspeaks zu C-2' (δ 140.6 ppm), C-3' (δ 40.3 ppm) und C-9' (δ 18.7 ppm). Des Weiteren ist eine Korrelation des Doppelbindungsprotons an C-1' zum Kohlenstoffatom C-4 (δ 106.7 ppm, ^3J -Kopplung) zu erkennen, die die Verknüpfung der Seitenkette an den Furanring in Position 5 bestätigt. Im ^1H , ^1H -COSY-Experiment zeigen die Protonen an C-3' (δ 2.22 ppm) Crosspeaks zu denen an C-4' (δ 2.32 ppm), die ebenfalls Kreuzsignale mit dem Doppelbindungsproton an C-5' (δ 5.46 ppm) ergeben. Die Zuordnung der Methylgruppe 10' erfolgt durch die HMBC-Crosspeaks zwischen den Protonen der Methylgruppe 10' (δ 1.73 ppm) und C-5' (δ 131.7 ppm), C-6' (δ 134.5 ppm) und C-7' (δ 141.3 ppm). Das Doppelbindungsproton an C-7' (δ 6.34 ppm) zeigt im ^1H , ^1H -COSY-Spektrum Kreuzsignale zu den Doppelbindungsprotonen an C-8' (δ 5.07/4.92 ppm). Außerdem sind im ^1H -NMR-Spektrum die Protonen einer Methoxygruppe bei 3.81 ppm zu erkennen, die im HMBC-Experiment eine Korrelation zu einem Carbonyl-Kohlenstoffatom bei 163.7 ppm zeigt, das an die Position 3 des Furanrings geknüpft ist. Das Molekölion m/z 260 ($[\text{M}]^{+}$) ist im Massenspektrum zu sehen. Ausgehend von den in der Literatur angegebenen ^1H - und ^{13}C -Daten handelt es sich bei diesem Furanmethylester um (1'*E*,5'*E*)-5-(2',6'-Dimethylocta-1',5',7'-trieryl)-furan-3-carbonsäurmethylester, der bereits aus der Weichkoralle *Sinularia capillosa* (Magnetic Island, Townsville, Australien) bekannt ist [222].

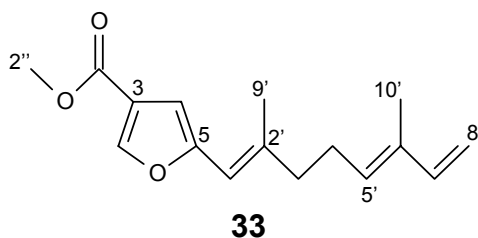


Abb. 73: Struktur des aus *Sinularia asterolobata* isolierten Furanosesquiterpens **33**

Position	^1H	^{13}C	Position	^1H	^{13}C
2	7.88 s	145.5	5'	5.46 dd, 6.9/7.0 Hz	131.7
3	-	120.3	6'	-	134.5
4	6.49 s	106.7	7'	6.34 dd, 17.4/10.7 Hz	141.3
5	-	154.6	8'	5.07 d, 17.4 Hz 4.92 d, 10.7 Hz	110.8
1'	6.04 s	113.6	9'	1.96 s	18.7
2'	-	140.6	10'	1.73 s	11.7
3'	2.22	40.3	1''	-	163.7
4'	2.32	26.7	2''	3.81 s	51.5

Tab. 22: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von Furanosesquiterpen **33** in CDCl_3

Das ^1H -NMR-Spektrum von Fraktion III-1 zeigt, dass es sich um ein Sterolgemisch handelt, dessen Hauptkomponenten nach Trimethylsilylierung durch GC-MS-Analyse als Trimethylsilylcholesterol ($\text{C}_{30}\text{H}_{54}\text{OSi}$, m/z 458), Trimethylsilylfecosterol ($\text{C}_{31}\text{H}_{54}\text{OSi}$, m/z 470), Trimethylsilylgorgosterol (TMS-**11**) ($\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{OSi}$, m/z 498) und Trimethylsilylstigmasterol ($\text{C}_{32}\text{H}_{56}\text{OSi}$, m/z 484) bestimmt wurden.

2.2.12 Sechs Capnellene, ein Präcapnellen und Sterole aus der Koralle

Dendronephthya rubeola

Beschreibung

Dendronephthya rubeola besitzt einen kurzen Stamm, der sich baumartig verzweigt. Der Stamm wie auch die Äste sind fast frei von Polypen; diese sind in Gruppen auf den Spitzen der Seitenzweige konzentriert, so dass sie ein blumenkohlähnliches Aussehen erhalten. Aus diesem Grund wird sie auch „Blumenkohlkoralle“ genannt. Die Polypen können nicht vollständig eingezogen werden. Jeder Polyp ist durch große, dornige, über 1 mm lange Skleriten, die sich auf der Außenhaut des Polypenstammes befinden, geschützt. Die Farbgebung dieser durchscheinenden Korallenart reicht von violett über hellrot bis hin zu orange-gelb. Es handelt sich um eine nachtaktive Spezies, die tagsüber zusammensinkt und sich zu einem Ball einrollen kann. Nachts expandieren sich die Kolonien zum Planktonfang und können bis zu 1 m groß werden. Ihre Größe verändern die Korallen durch Ein- und

Auspumpen von Wasser mithilfe ihrer gastrovaskulären Kanäle. Entleert die Koralle diese schlauchförmigen, wassergefüllten Hohlräume im Stamm, dann sinkt die Kolonie in sich zusammen und ihr Volumen verringert sich erheblich [172].

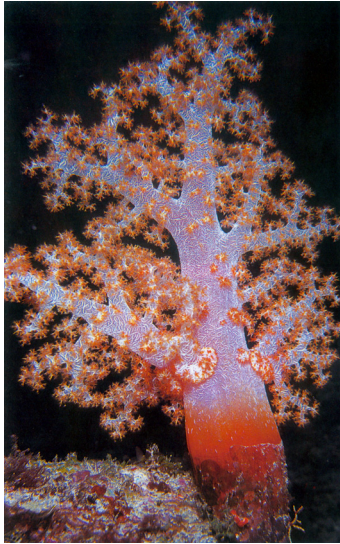


Abb. 74: Nachtaufnahme einer *Dendronephthya* sp. [235] (links); Zu untersuchende zusammengerollte *Dendronephthya rubeola* am Tag (rechts)

Sie gehört zu den Tiefenkorallen, die in schattigen bis dunklen Bereichen im Riff leben [223]. Dies können z. B. schattige Stellen von Unterhöhlungen oder an Riffkanten von Überhängen sein. Sie können aber auch von Höhlendecken herabhängen. Da es sich bei dieser Spezies um eine nachtaktive Tiefseekoralle handelt, beherbergen sie auch keine Zooxanthellen. Sie werden deswegen auch als azooxanthellate Korallen bezeichnet, für die neben den schönen und kräftigen Farben ein deutlich langsames Wachstum als bei Korallen aus der Lichtzone z. B. *Nephthea* sp. typisch ist. *Dendronephthya rubeola* lebt im Roten Meer und Indo-Pazifik. Sie gehört als bäumchenförmige Weichkoralle zur Familie Nephtheidae. In der Nähe von Bali, Indonesien wurde im Mai 2001 die zu untersuchende blaue *Dendronephthya rubeola* gefunden. Von dieser Spezies sind bis jetzt keine Untersuchungsergebnisse über Sekundärmetabolite publiziert worden.

Aufarbeitungsschema

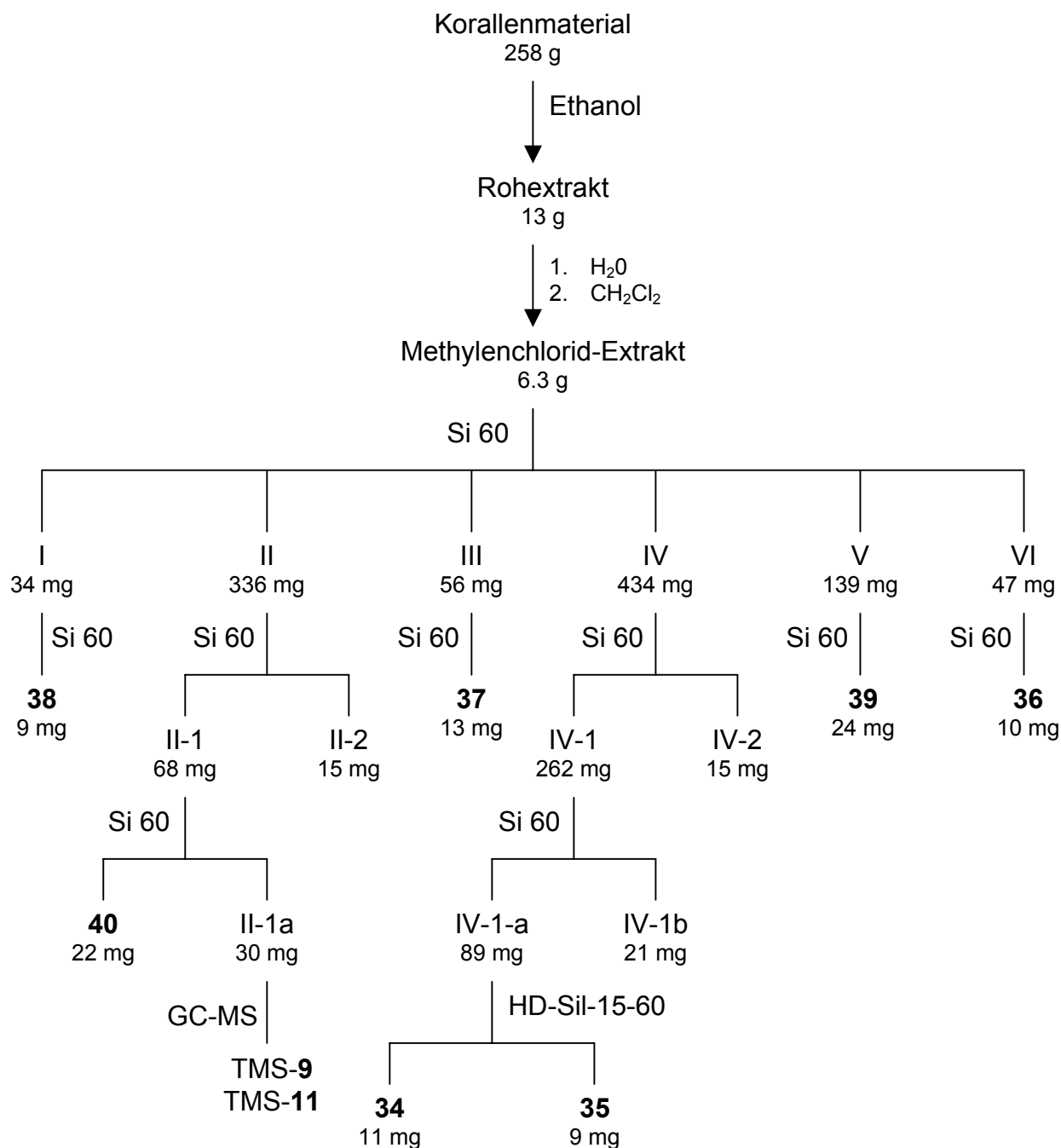


Abb. 75: Aufarbeitungsschema von *Dendronephthya rubeola*

Strukturbestimmung

Im ¹H-NMR-Spektrum des Capnellens **34** (Struktur von **34**, Abb. 76) sind zwei Singulett bei 1.06 und 1.24 ppm für die Methylgruppen 14 und 15 zu sehen, die beide an das quartäre Kohlenstoffatom C-1 (δ 46.0 ppm) gebunden sind. Dies zeigen die HMBC-Crosspeaks der Protonen der Methylgruppen 14 und 15 mit C-1, C-2 (δ 84.3 ppm), C-11 (δ 60.4 ppm) und ihre Kreuzsignale untereinander. Die

^{13}C -Resonanz von C-2 und der Crosspeak im HMBC-Spektrum zwischen dem Proton an C-2 (δ 4.85 ppm) und einem Carbonyl-Kohlenstoffatom weist auf eine Acetylgruppe an C-2 hin. Das Proton an C-2 koppelt im ^1H , ^1H -COSY-Experiment mit den Protonen an C-3 (δ 2.02/1.74 ppm). Im HMBC-Spektrum existieren Crosspeaks zwischen den Protonen an C-3 und den Kohlenstoffatomen C-4 (δ 51.0 ppm) und C-11, die den A-Ring schließen. Die Protonen an C-3 zeigen des Weiteren HMBC-Crosspeaks zu C-5 (δ 41.4 ppm) und C-13 (δ 72.9 ppm). Die C-13 Resonanz weist eine Verschiebung ins tiefe Feld auf, die einen Acetyl-Substituenten nahe legt. Im HMBC-Experiment sieht man eine Korrelation der Protonen an C-13 (δ 3.89/3.83 ppm) mit dem Carbonyl-Kohlenstoffatom der Acetylgruppe. Im ^1H , ^1H -COSY-Spektrum sind Crosspeaks zwischen den Protonen an C-5 (δ 1.83/1.55 ppm) und dem Proton an C-6 (δ 2.46 ppm) zu erkennen. Im ^1H -NMR-Spektrum fällt das Singulett bei 4.78 ppm auf, das im HMQC-Experiment keinem Kohlenstoffatom zugeordnet werden kann und daher das Proton einer Hydroxygruppe ist. Die Position dieser Hydroxygruppe an C-10 wird durch die HMBC-Crosspeaks zwischen dem Proton der Hydroxygruppe und C-10 (δ 88.3 ppm), C-11, C-6 (δ 49.5 ppm) und C-9 (δ 157.5 ppm) bestätigt. Somit ist die Konnektivität C-11/C-10/C-6/C-5/C-4 des B-Ringes in **34** festgelegt. Das ^{13}C -Signal von C-9 bei 157.5 ppm lässt auf ein quartäres Kohlenstoffatom einer Doppelbindung schließen. Bewiesen wird dies durch die HMBC-Crosspeaks der Protonen der endständigen Doppelbindung (δ 5.34/5.30 ppm) mit C-9, C-10 und C-8 (δ 74.8 ppm). Der C-Ring wird durch die Crosspeaks im ^1H , ^1H -COSY-Spektrum zwischen dem Proton an C-8 (δ 5.59 ppm) und den Protonen an C-7 (δ 2.24/1.45 ppm) und diese mit dem Proton an C-6 geschlossen. Auf Grund der Tieffeldverschiebung von C-8- und ^1H -Signal von H-8 bei δ 5.76 ppm (CDCl_3) ist die dritte Acetylgruppe an C-8 geknüpft [224]. Das Grundgerüst von **34** sind 3 miteinander verknüpfte 5 Ringe mit einer exo-ständigen Doppelbindung an C-9 – dem Capnellen.

Die relative Konfiguration wird durch ein ROESY-Experiment bestimmt. Die Protonen der Methylgruppe 14 zeigen ROESY-Crosspeaks zum Proton an C-3 (δ 1.74 ppm) und zu den Protonen an C-13. Letztere wechselwirken mit dem Proton an C-11, welches wiederum NOEs zum Proton an C-2 und dem Proton an C-7 (δ 1.45 ppm) aufweist. Daraus ergibt sich, dass die Protonen H-2, H-3 (δ 1.74 ppm), H-7 (δ 1.45 ppm), H-11, die Methylengruppe C-13 und die Methylgruppe 14 β -konfiguriert sind.

Die Protonen der Methylgruppe 15 zeigen dagegen NOEs zum Proton an C-3 (δ 2.02 ppm), dem Proton an C-5 (δ 1.83 ppm), dem Proton an C-7 (δ 2.24 ppm) und dem an C-6. Außerdem werden ROESY-Crosspeaks vom Proton an C-6 zum Proton an C-8 sowie zu dem Proton der Hydroxygruppe an C-10 deutlich. Dies bestätigt die α -Orientierung von H-3 (δ 2.02 ppm), H-5 (δ 1.83 ppm), H-6, H-7 (δ 2.24 ppm), H-8, der Hydroxygruppe an C-10 und der Methylgruppe 15.

Das HR-ESI-Massenspektrum zeigt ein Molekülion bei m/z 417.1879 ($[M+Na]^+$). Im EI-Massenspektrum hingegen wird das Ion bei m/z 334 beobachtet, was auf eine Abspaltung von Essigsäure hindeutet ($[M-AcOH]^+$). Damit handelt es sich bei **34** um das neue $(-)-2\alpha,8\beta,13$ -Triacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol.

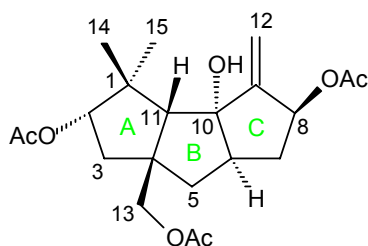
**34**

Abb. 76: Struktur des aus *Dendronephthya rubeola* isolierten $(-)-2\alpha,8\beta,13$ -Triacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ols (**34**)

	34 (DMSO- D_6)		34 (CDCl $_3$)	
Position	1H	^{13}C	1H	^{13}C
1	-	46.0	-	46.7
2	4.85	84.3	4.93	85.6
3	2.02 1.74 dd, 14.5/2.2 Hz	42.2	2.06 1.92-1.86	43.0
4	-	51.0	-	51.5
5	1.83 dd, 14.2/9.9 Hz 1.55 dd, 14.2/7.1 Hz	41.4	1.92-1.86 1.67	41.7
6	2.46	49.5	2.64	50.0
7	2.24 1.45 -	34.5	2.32 / 1.62	35.2
8	5.59	74.8	5.76	75.1

9	-	157.5	-	158.9
10	-	88.3	-	89.9
11	2.13 s	60.4	2.23 s	61.0
12	5.34 s 5.30 s	113.4	5.47 brs	115.3
13	3.89 d, 10.3 Hz 3.83 d, 10.3 Hz	72.9	3.93 d, 10.4 Hz 3.88 d, 10.4 Hz	73.5
14	1.06 s	24.4	1.13 s	24.6
15	1.24 s	22.8	1.28 s	23.1
CH ₃ COO-2	-	170.1 ^{b)}	-	170.7 ^{e)}
CH ₃ COO-2	1.99 s ^{a)}	20.9 ^{c)}	2.04 s ^{d)}	21.3 ^{f)}
CH ₃ COO-8	-	169.9 ^{b)}	-	170.6 ^{e)}
CH ₃ COO-8	1.98 s ^{a)}	20.7 ^{c)}	2.02 s ^{d)}	21.2 ^{f)}
CH ₃ COO-13	-	170.6	-	171.4
CH ₃ COO-13	1.97 s ^{a)}	20.9 ^{c)}	2.01 s ^{d)}	20.9 ^{f)}
HO-10	4.78 s	-	-	-

Tab. 23: ¹H- und ¹³C-NMR-Daten von (-)-2 α ,8 β ,13-Triacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (**34**) in DMSO-D₆ und CDCl₃; ^{a)}, ^{b)}, ^{c)}, ^{d)}, ^{e)}, ^{f)} Zuordnungen austauschbar

Capnellen **35** besitzt dieselbe Molekülmasse wie **34** und zeigt bis auf deutliche Abweichungen der ¹³C-Resonanzen von C-2, C-3, C-13 und C-14 eine gute Übereinstimmung. Die Gründe für die Abweichungen sind die zwei Acetylgruppen, die in **35** nicht an C-2 (δ 42.6 ppm) und C-13 (δ 31.4 ppm), sondern an C-3 (δ 82.6 ppm) und C-14 (δ 71.8 ppm) gebunden sind. Die Korrelation im HMBC-Spektrum zwischen dem Proton an C-3 (δ 4.61 ppm) und dem Carbonyl-Kohlenstoffatom der Acetylgruppe (δ 169.9 ppm) an C-3 sowie den Crosspeaks zwischen den Protonen an C-14 (δ 3.99/3.86 ppm) mit dem Carbonyl-Kohlenstoffatom der Acetylgruppe (δ 170.4 ppm) an C-14 bestätigen dies. Die Strukturaufklärung mittels ¹H, ¹H-COSY-, HMBC- und HMQC-Experimenten zeigt, dass es sich um ein $\Delta^{9(12)}$ -Capnellen handelt, dessen relative Konfiguration mit dem ROESY-Spektrum festgelegt wird. Die Protonen an C-14 weisen NOE-Korrelationen zum Proton an C-2 (δ 1.93 ppm), dem Proton an C-3 (δ 4.61 ppm), dem Proton an C-11 (δ 2.05 ppm) und den Protonen der Methylgruppe 13 (δ 1.11 ppm) auf. Für die Protonen der Methylgruppe 13 sind ebenfalls Crosspeaks zum Proton an C-5 (δ 0.91 ppm) und zum Proton an C-7 (δ 1.41 ppm) zu beobachten. Daher sind H-2 (δ 1.93 ppm), H-3, H-5 (δ 0.91 ppm), H-7 (δ 1.41 ppm), H-11, die Methylengruppe 14 und die Methylgruppe 13 β -orientiert.

Die α -Konfiguration der Methylgruppe 15, der Hydroxygruppe an C-10, H-8, H-7 (δ 2.30 ppm), H-6, H-5 (δ 2.10 ppm) und H-2 (δ 1.66 ppm) zeigen die ROESY-Crosspeaks der Protonen der Methylgruppe 15 (δ 1.28 ppm) zum Proton an C-2 (δ 1.66 ppm), zum Proton an C-5 (δ 2.10 ppm), zum Proton an C-7 (δ 2.30 ppm) und zu dem an C-6 (δ 2.36 ppm). Außerdem kann man NOEs vom Proton an C-6 zum Proton an C-8 (δ 5.62 ppm) und zum Proton der Hydroxygruppe an C-10 (δ 4.66 ppm) beobachten. Daher handelt es sich bei **35** um das neue Capnellen (+)-3 α ,8 β ,14-Triacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol. Aus der Literatur ist die Verbindung 3 β ,8 β ,14-Triacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol bekannt, die Sheikh *et al.* durch Acetylierung von $\Delta^{9(12)}$ -Capnellen-3 β ,8 β ,10 α ,14-tetrol erhielten [225]. Die unterschiedliche Konfiguration an C-3 wird durch die Protonenverschiebung ($\Delta\delta = +0.41$) deutlich. Vergleicht man außerdem die Kopplungskonstanten von H-3 (δ 5.08 ppm, CDCl₃, dd, 10.6, 5.6 Hz) in 3 β -Acetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-8 β ,10 α ,14-triol mit denen von **35** (δ 4.74 ppm, CDCl₃, dd, 5.9, 2.2 Hz) wird die α -Konfiguration der Acetylgruppe an C-3 bestätigt [90].

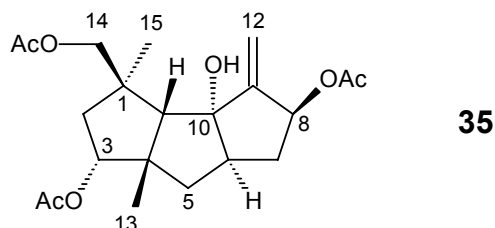


Abb. 77: Struktur des aus *Dendronephthya rubeola* isolierten (+)-3 α ,8 β ,14-Triacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ols (**35**)

	35 (DMSO-D ₆)		35 (CDCl ₃)	
Position	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
1	-	45.4	-	46.2
2	1.93 dd, 13.5/6.4 Hz 1.66 dd, 13.5/3.3 Hz	42.6	2.03 1.66	43.7
3	4.61	82.6	4.74 dd, 5.9/2.2 Hz	83.1
4	-	52.3	-	53.6
5	2.10 dd, 14.0/9.4 Hz 0.91 dd, 14.0/7.2 Hz	37.4	2.14 1.07 dd, 14.3/7.8 Hz	37.3

6	2.36	49.9	2.52	50.7
7	2.30/1.41	34.6	2.40/1.55	35.3
8	5.62	74.6	5.76	75.1
9	-	157.0	-	157.7
10	-	88.2	-	89.3
11	2.05 s	60.9	2.10 s	62.0
12	5.26 s	111.7	5.34 s	113.0
	5.22 s		5.30 s	
13	1.11 s	31.4	1.14 s	31.2
14	3.99 d, 10.6 Hz	71.8	4.08 d, 10.7 Hz	73.1
	3.86 d, 10.6 Hz		3.85 d, 10.7 Hz	
15	1.28 s	20.3	1.35 s	21.1
CH ₃ COO-3	-	169.9	-	170.3
CH ₃ COO-3	2.02 ^{a)}	21.0 ^{b)}	2.08 ^{c)}	21.1 ^{d)}
CH ₃ COO-8	-	170.2	-	170.7
CH ₃ COO-8	2.02 ^{a)}	20.9 ^{b)}	2.08 ^{c)}	21.3
CH ₃ COO-14	-	170.4	-	171.2
CH ₃ COO-14	2.01 ^{a)}	20.7 ^{b)}	2.04 ^{c)}	21.0 ^{d)}
HO-10	4.66 s	-	-	-

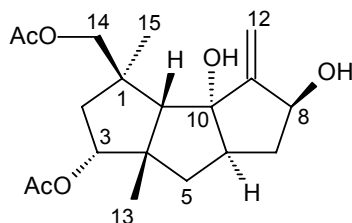
Tab. 24: ¹H- und ¹³C-NMR-Daten von (+)-3 α ,8 β ,14-Triacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (**35**) in DMSO-D₆ und CDCl₃; ^{a)}, ^{b)}, ^{c)}, ^{d)} Zuordnungen austauschbar

Die Auswertung der NMR-Spektren zeigt, dass **36** ein $\Delta^{9(12)}$ -Capnellen mit zwei Acetoxy- und zwei Hydroxygruppen ist. Aus dem ESI-MS ergibt sich eine um 42 kleinere Molekülmasse (m/z 375.1785 [M+Na]⁺) als bei **35**. Der Vergleich der ¹³C-NMR-Verschiebungen von **36** mit **35** weist eine Veränderung an C-7, C-8, C-9 und C-12 auf, die durch die Abwesenheit der Acetylgruppe am Sauerstoff von C-8 in **36** entsteht. Im ¹H-NMR-Spektrum von **36** ist bei 4.93 ppm ein Singulett zu erkennen, das dem Proton der Hydroxygruppe an C-8 zuzuordnen ist. Sie zeigt im HMBC-Experiment Crosspeaks zu C-8 (δ 71.8 ppm), C-7 (δ 38.0 ppm) und C-9 (δ 161.4 ppm).

Aus dem ROESY-Spektrum kann die relative Konfiguration von **36** bestimmt werden. Die Protonen der Methylengruppe 14 (δ 3.95/3.86 ppm) weisen Crosspeaks zum Proton an C-2 (δ 1.92 ppm), dem Proton an C-3 (δ 4.60 ppm), dem Proton an C-11 (δ 2.04 ppm) und den Protonen der Methylgruppe 13 (δ 1.12 ppm) auf. Letztere korrelieren mit dem Proton an C-5 (δ 0.93 ppm) und dem Proton an C-7 (δ 1.24 ppm). Das Proton an C-7 (δ 1.24 ppm) zeigt ein weiteres Kreuzsignal zum Proton der

Hydroxygruppe an C-8. Dies spricht dafür, dass die Methylgruppe 13, die Methylengruppe 14, die Hydroxygruppe an C-8, H-2 (δ 1.92 ppm), H-3, H-5 (δ 0.93 ppm), H-7 (δ 1.24 ppm) und H-11 β -konfiguriert sind. Die α -Orientierung von H-2 (δ 1.67 ppm), H-5 (δ 2.12 ppm), H-6, H-7 (δ 2.16 ppm), H-8, der Hydroxygruppe an C-10 und der Methylgruppe 15 wird festgelegt durch die NOEs von den Protonen der Methylgruppe 15 (δ 1.29 ppm) zu dem Proton an C-2 (δ 1.67 ppm), C-5 (δ 2.12 ppm), C-6, C-7 (δ 2.16 ppm) und zum Proton der Hydroxygruppe an C-10 (δ 4.40 ppm), wobei diese einen Crosspeak zum Proton an C-8 (δ 4.53 ppm) zeigt.

Die Struktur von **36** kann somit als das neue (+)-3 α ,14-Diacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-8 β ,10 α -diol angegeben werden. Sie ist dem bereits bekannten 3 β ,14-Diacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-8 β ,10 α -diol aus der Koralle *Capnella imbricata* (Laing Island, Papua-Neuguinea) sehr ähnlich [224]. Der Unterschied der beiden Strukturen besteht nur in der Konfiguration an Position 3. Die Kopplungskonstanten von H-3 (CDCl₃, dd, 6.0, 2.1 Hz) in **36** weicht von der in 3 β ,14-Diacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-8 β ,10 α -diol (CDCl₃, dd, 9,9 Hz) ab. Dies bestätigt die α -Konfiguration der Acetoxygruppe an C-3 in **36**.



36

Abb. 78: Struktur des aus *Dendronephthya rubeola* isolierten (+)-3 α ,14-Diacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-8 β ,10 α -diols (**36**)

	36 (DMSO-D₆)		36 (CDCl₃)	
Position	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
1	-	45.0	-	46.0
2	1.92 dd, 13.5/6.7 Hz 1.67 dd, 13.5/4.1 Hz	42.6	2.04 1.67	43.9
3	4.60 dd, 6.3/4.1 Hz	82.5	4.73 dd, 6.0/2.1 Hz	83.0
4	-	53.0	-	54.2
5	2.12 0.93 dd, 13.5/5.6 Hz	37.9	2.21 dd, 14.0/9.3 Hz 1.08 dd, 14.0/6.8 Hz	38.1
6	2.25	49.6	2.48	50.4
7	2.16/1.24	38.0	2.39/1.46	38.5
8	4.53	71.8	4.78	73.5
9	-	161.4	-	161.4
10	-	88.1	-	89.3
11	2.04 s	61.0	2.16 s	61.7
12	5.12 s 5.07 s	107.5	5.30 s 5.22 s	109.5
13	1.12 s	31.4	1.15 s	31.2
14	3.95 d, 10.7 Hz 3.86 d, 10.7 Hz	71.7	4.06 d, 10.7 Hz 3.84 d, 10.7 Hz	73.2
15	1.29 s	20.3	1.37 s	21.3
CH ₃ COO-3	-	170.0	-	171.3
CH ₃ COO-3	2.01	20.9	2.07 s	21.0
CH ₃ COO-14	-	170.5	-	170.2
CH ₃ COO-14	2.02	20.7	2.07 s	21.0
HO-8	4.93 d, 5.5 Hz	-	-	-
HO-10	4.40 s	-	-	-

Tab. 25: ¹H- und ¹³C-NMR-Daten von (+)-3 α ,14-Diacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-8 β ,10 α -diol (**36**) in DMSO-D₆ und CDCl₃

Aus den NMR-Daten von **37** (Struktur von **37**, Abb. 79) geht hervor, dass es sich bei dieser Verbindung wiederum um ein $\Delta^{9(12)}$ -Capnellen handelt, das zwei Acetoxy- und eine Hydroxygruppe besitzt. Die Hydroxygruppe ist an das Kohlenstoffatom 10 gebunden. Dies zeigen die Crosspeaks im HMBC-Spektrum zwischen dem Proton der Hydroxygruppe (δ 4.57 ppm) und C-10 (δ 88.9 ppm, ²J-Kopplung), C-11 (δ 66.3

ppm) und C-6 (δ 50.2 ppm). Der HMBC-Crosspeak vom Proton an C-3 (δ 4.66 ppm) mit dem Carbonyl-Kohlenstoffatom (δ 170.2 ppm) beweist die Position einer Acetoxygruppe an C-3. Die chemische Verschiebung des Protonensignals an C-8 bei 5.69 ppm (CDCl_3) bestätigt die Verknüpfung der zweiten Acetoxygruppe an C-8, denn bei Capnellen **36** mit freier Hydroxygruppe an dieser Stelle befindet sich die H-8 Resonanz bei 4.78 ppm (CDCl_3).

Mithilfe eines ROESY-Experiments kann die relative Konfiguration von **37** ermittelt werden. Die Protonen der Methylgruppe 14 (δ 1.07 ppm) korrelieren mit dem Proton an C-2 (δ 1.71 ppm), C-3 und C-11 (δ 1.85 ppm), das zusätzlich einen Crosspeak zu den Protonen der Methylgruppe 13 (δ 1.21 ppm) zeigt. Des Weiteren weisen die Protonen der Methylgruppe 13 NOEs zum Proton an C-5 (δ 0.92 ppm) und zum Proton an C-7 (δ 1.42 ppm) auf. Daraus ergibt sich, dass die Protonen der Methylgruppe 13 und 14 sowie das Proton an C-2 (δ 1.71 ppm), an C-3, an C-5 (δ 0.92 ppm), an C-7 (δ 1.42 ppm) und an C-11 auf der β -Seite von **37** liegen. Aus dem ROESY-Spektrum kann man ebenso entnehmen, dass die Protonen der Methylgruppe 15 (δ 1.27 ppm) mit dem Proton an C-2 (δ 1.84 ppm) und dem Proton an C-5 (δ 2.15 ppm) wechselwirken. Letzteres zeigt ein Kreuzsignal mit dem Proton der Hydroxygruppe an C-10. Weitere NOEs des Protons der Hydroxygruppe an C-10 gehen zum Proton an C-8 (δ 5.58 ppm), C-6 (δ 2.28 ppm) und zum Proton an C-7 (δ 2.26 ppm). Für die Methylgruppe 15, die Hydroxygruppe an C-10, das Proton an C-2 (δ 1.84 ppm), C-5 (δ 2.15 ppm), C-6, C-7 (δ 2.26 ppm) und C-8 ergibt sich dadurch die α -Konfiguration.

Bei Verbindung **37** handelt es sich somit um das neue (+)-3 α ,8 β -Diacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol. Bekannt ist 3 β ,8 β -Diacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol aus der Koralle *Capnella imbricata* (Laing Island, Papua-Neuguinea), mit der inversen Konfiguration an C-3 [224]. Dies bestätigt der Vergleich der Kopplungskonstanten von H-3 (CDCl_3 , dd, 5.5, 5.7 Hz) in **37** mit denen von H-3 (CDCl_3 , dd, 7.0, 10.0 Hz) in 3 β ,8 β -Diacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol [226].

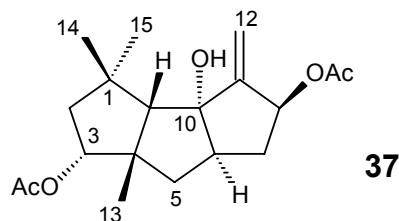


Abb. 79: Struktur des aus *Dendronephthya rubeola* isolierten
(+)-3 α ,8 β -Diacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ols (**37**)

Position	37 (DMSO-D ₆)		37 (CDCl ₃)	
	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
1	-	40.9	-	41.5
2	1.84 1.71 dd, 12.6/6.7 Hz	46.6	1.81	47.6
3	4.66	82.8	4.76 dd, 5.5, 5.7 Hz	83.5
4	-	52.9	-	53.6
5	2.15 dd, 13.7/8.0 Hz 0.92 dd, 13.7/4.9 Hz	36.7	2.19 dd, 14.3/8.3 Hz 1.05 dd, 14.3/5.3 Hz	36.8
6	2.28	50.2	2.34	51.3
7	2.26/1.42	34.4	2.35/1.53	35.0
8	5.58	74.5	5.69	74.9
9	-	157.0	-	157.4
10	-	88.9	-	90.3
11	1.85 s	66.3	1.95 s	66.7
12	5.25 s 5.19 s	111.5	5.35 s 5.31 s	113.0
13	1.21 s	32.7	1.22 s	32.3
14	1.07 s	32.1	1.11 s	32.7
15	1.27 s	25.0	1.29 s	25.3
CH ₃ COO-3	-	170.2	-	170.8
CH ₃ COO-3	2.02 s	21.0	2.03 s	21.3
CH ₃ COO-8	-	170.1	-	170.6
CH ₃ COO-8	2.01 s	21.0	2.04 s	21.3
HO-10	4.57 s	-	-	-

Tab. 26: ¹H- und ¹³C-NMR-Daten von (+)-3 α ,8 β -Diacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (**37**)
in DMSO-D₆ und CDCl₃

Das ^{13}C -NMR-Spektrum von Präcapnellen **38** kann in drei Bereiche unterteilt werden. Die Hochfeldsignale werden im aliphatischen Bereich bis 42 ppm beobachtet. Die Signale für die zwei sauerstofftragenden Kohlenstoffatome befinden sich im Bereich 2 zwischen 60 – 64 ppm. Im dritten Bereich werden zwei Tieffeldsignale beobachtet, die zu einer Doppelbindung in **38** gehören. Das quartäre Kohlenstoffatom der Doppelbindung C-10 bei 146.4 ppm bildet mit C-6 (δ 35.5 ppm) die Verknüpfungspunkte zwischen einem 8- und einem 5-gliedrigen Ring. Die HMBC-Crosspeaks von C-10 zum Doppelbindungsproton an C-11 (δ 5.13 ppm, ^2J -Kopplung), dem Proton an C-6 (δ 3.04 ppm, ^2J -Kopplung), den Protonen an C-5 (δ 2.13/1.57 ppm), den Protonen an C-7 (δ 1.65/1.36 ppm), dem Proton an C-9 (δ 2.37 ppm, ^2J -Kopplung) und den Protonen der Methylgruppe 12 (δ 1.08 ppm) bestätigen dies. Die Position der Methylgruppe 12 ergibt sich außerdem durch die Crosspeaks im HMBC-Spektrum zwischen den Protonen der Methylgruppe 12 und C-9 (δ 40.4 ppm, ^2J -Kopplung), C-10 und C-8 (δ 31.5 ppm). Im ^1H , ^1H -COSY-Experiment zeigt das Proton an C-9 Kreuzsignale zu den Protonen an C-8 (δ 1.74/1.20 ppm), diese zu den Protonen an C-7, welche wiederum mit dem Proton an C-6 korrelieren und somit den 5-Ring zwischen C-10/C-9/C-8/C-7/C-6 schließen. Das Proton an C-6 weist des Weiteren im ^1H , ^1H -COSY-Spektrum Crosspeaks zu den Protonen an C-5 auf. Die HMBC-Crosspeaks zwischen den Protonen der Methylgruppe 13 (δ 1.21 ppm) und C-5 (δ 41.3 ppm), C-4 (^2J -Kopplung) und C-3 geben die Lage der Methylgruppe 13 an. Die ^{13}C -Resonanzen von C-4 bei 60.7 ppm und C-3 bei 63.9 ppm deuten auf ein Epoxid zwischen Position 3 und 4 hin. Das Proton an C-3 (δ 2.84 ppm) zeigt im ^1H , ^1H -COSY-Experiment Korrelationen zu den Protonen an C-2 (δ 1.96/1.95 ppm). Die Methylgruppen 14 und 15 sind an C-1 geknüpft. Dies beweisen die HMBC-Crosspeaks der Protonen der Methylgruppe 14 (δ 1.00 ppm) und 15 (δ 1.11 ppm) zu C-1 (δ 35.6 ppm, ^2J -Kopplung), C-2 (δ 40.4 ppm) und C-11 (δ 130.5 ppm), wobei der 8-Ring bestätigt wird. Das HR-ESI-Massenspektrum zeigt ein Molekülion bei m/z 243.1723 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. **38** besitzt ein Präcapnellan-Grundgerüst mit einem Epoxid in 3,4- und einer Doppelbindung in 10,11-Position. Die relative Konfiguration wird durch die Auswertung eines ROESY-Experimentes bestimmt. Die (Z)-Konfiguration der Doppelbindung 10,11 lässt sich durch die NOEs zwischen dem Proton an C-11 und den Protonen der Methylgruppen 12, 14, 15 festlegen. Die Protonen der Methylgruppe 15 zeigen Crosspeaks zu dem Proton an C-6 und dem an C-9, das

seinerseits einen NOE zum Proton an C-7 (δ 1.36 ppm) aufweist. Somit liegen die Methylgruppe 15, das Proton an C-6, an C-7 (δ 1.36 ppm) und an C-9 auf der gleichen Seite im Molekül und sind somit α -orientiert. Das Epoxid ist ebenfalls α -konfiguriert. Dies ergeben die Kreuzsignale des Protons an C-3 mit den Protonen der Methylgruppen 13 und 14. Die β -Orientierung der Methylgruppe 14 wird zusätzlich durch den NOE der Protonen der Methylgruppe 14 zum Proton an C-8 (δ 1.74 ppm) bewiesen.

Die Struktur der Verbindung **38** kann als das neue (+)-3 α ,4 α -Epoxy- Δ^{10} -präcapnellens angegeben werden.

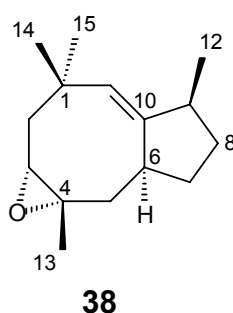


Abb. 80: Struktur des aus *Dendronephthya rubeola* isolierten (+)-3 α ,4 α -Epoxy- Δ^{10} -präcapnellens (**38**)

Position	^1H	^{13}C	Position	^1H	^{13}C
1	-	35.6	9	2.37	40.4
2	1.96/1.95	40.4	10	-	146.4
3	2.84	63.9	11	5.13 s	130.5
4	-	60.7	12	1.08 d, 6.9 Hz	21.4
5	2.13 dd, 15.4/6.0 Hz 1.57	41.3	13	1.21 s	27.0
6	3.04	35.5	14	1.11 s	30.1
7	1.65/1.36	33.9	15	1.00 s	31.8
8	1.74/1.20	31.5			

Tab. 27: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (+)-3 α ,4 α -Epoxy- Δ^{10} -präcapnellens (**38**) in CDCl_3

Die NMR-Daten von **39** ergeben, dass es sich um ein $\Delta^{9(12)}$ -Capnellens mit zwei Hydroxygruppen handelt. Das Proton der Hydroxygruppe an C-10 bei 4.14 ppm zeigt im HMBC-Spektrum Crosspeaks zu C-10 (δ 88.4 ppm, ^2J -Kopplung), C-6 (δ 49.4 ppm), C-11 (δ 65.3 ppm) und C-9 (δ 161.9 ppm). Die zweite Hydroxygruppe ist an

C-8 (δ 71.9 ppm) gebunden. Die HMBC-Crosspeaks zwischen dem Proton der Hydroxygruppe (δ 4.85 ppm) und C-8 (2J -Kopplung), C-9 und C-7 (δ 37.4 ppm) beweisen dies. Das HR-ESI-Massenspektrum zeigt für **39** ein Molekölion bei m/z 259.1668 ($[M+Na]^+$). Der Vergleich der NMR-Daten und des Drehwertes mit den Literaturwerten [90] bestätigt, dass es sich bei **39** um das bekannte (+)- $\Delta^{9(12)}$ -Capnellen-8 β ,10 α -diol handelt, das zuerst aus der Weichkoralle *Capnella imbricata* (Island von Leti, Province von Maluku, Indonesien) isoliert wurde [226]. **39** ist mit einem IC_{50} -Wert von 0.7 μM cytotoxisch gegen die menschliche Leukämiezelllinie K562 [90].

Aus dem HR-ESI-Massenspektrum von **40** ergibt sich, dass diese Verbindung ein um 42 Masseneinheiten höheres Molekölion bei m/z 301.1783 ($[M+Na]^+$) als **39** besitzt. Der Vergleich der ^{13}C -NMR-Daten von **40** mit denen von $\Delta^{9(12)}$ -Capnellen-8 β ,10 α -diol (**39**) zeigt bis auf die Signale von C-9, C-8 und C-7 eine gute Übereinstimmung. Der Grund für diese Abweichung ist die Anwesenheit einer Acetylgruppe (δ 170.9 und 21.4 ppm), die an das Sauerstoffatom in Position 8 gebunden ist. Dies ergibt die Korrelation zwischen dem Proton an C-8 (δ 5.76 ppm) und dem Carbonyl-Kohlenstoffatom (δ 170.9 ppm) der Acetylgruppe. Verbindung **40** ist das bekannte (–)-8 β -Acetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol, das bereits aus der Weichkoralle *Capnella imbricata* (Laing Island, Papua-Neuguinea) gewonnen wurde [224].

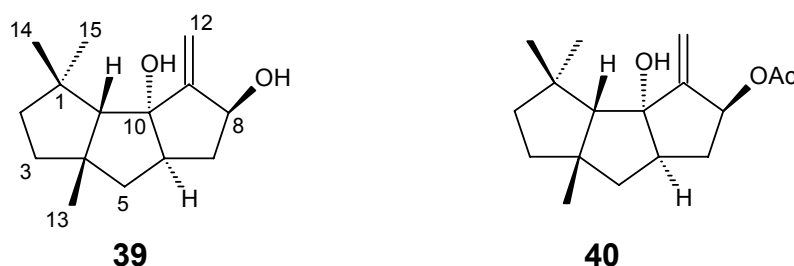


Abb. 81: Strukturen der aus *Dendronephthya rubeola* isolierten Capnellene **39-40**

Die 1H - und ^{13}C -NMR-Spektren der Fraktion II-1a deuten auf ein Sterolgemisch hin. Mithilfe der GC-MS-Analyse konnten nach Trimethylsilylierung Trimethylsilyl-24 ξ -methylcholesterol (TMS-**9**) ($C_{31}H_{56}OSi$, m/z 472) und Trimethylsilylgorgosterol (TMS-**11**) ($C_{33}H_{58}OSi$, m/z 498) identifiziert werden.

	39 (DMSO-D ₆)		39 (CDCl ₃)		40 (CDCl ₃)	
Position	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
1	-	43.5	-	44.0	-	44.1
2	1.52/1.35	42.5	1.48	43.2	1.45	43.3
3	1.64/1.39	41.7	1.70/1.49	42.0	1.70/1.50	42.3
4	-	49.9	-	49.9	-	49.4
5	1.78 1.24	45.8	1.90 dd, 13.7/9.3 Hz 1.25	46.2	1.84 dd, 13.8/9.4 Hz 1.26 dd, 13.8/8.7 Hz	45.4
6	2.24	49.4	2.46	49.7	2.53	49.8
7	2.10/1.23	37.4	2.32/1.47	37.9	2.34/1.53	34.9
8	4.53	71.9	4.77	73.7	5.76	75.3
9	-	161.9	-	162.5	-	158.6
10	-	88.4	-	90.3	-	90.2
11	1.77 s	65.3	1.84 s	65.7	1.82 s	65.9
12	5.11 5.07	107.4	5.30 sbr	109.8	5.35 s 5.31 s	112.9
13	1.05 s	32.9	1.05 s	32.8	1.04 s	32.4
14	1.07 s	31.3	1.12 s	31.4	1.13 s	31.4
15	1.23 s	24.1	1.23 s	24.1	1.22 s	23.9
CH ₃ COO-8	-	-	-	-	-	170.9
CH ₃ COO-8	-	-	-	-	2.04 s	21.4
HO-10	4.14 s	-	-	-	-	-
HO-8	4.85 d, 5.5 Hz	-	-	-	-	-

Tab. 28: ¹H- und ¹³C-NMR-Daten von (+)-Δ⁹⁽¹²⁾-Capnellen-8β,10α-diol (**39**) und (-)-8β-Acetoxy-Δ⁹⁽¹²⁾-capnellen-10α-ol (**40**) in CDCl₃ und DMSO-D₆

3 Pharmakologische Testungen

Auf der Suche nach neuen pharmakologisch wirksamen Sekundärmetaboliten aus Pflanzen und marinen Organismen ist es wichtig, die isolierten Verbindungen nach der Strukturermittlung zu testen. Aus dieser Arbeit wurden (14*S*,16*S*,20*R*)-14,16-14,20-15,20-Trieпоxy-14,15-secopregn-5-en-3 β -ol (**4**) aus der Pflanze *Solenostemma argel* (Del.) Hayne, Furanocembranoid (-)-11 β ,12 β -Epoхypukalid (**14**) und Sesquiterpen (-)-Bicyclogermacren (**15**) aus der Koralle *Litophyton arboreum*, die Cembranoide (+)-17-Hydroxysarcophytoхid (**23**) und (+)-7 β -Acetoхy-8 α -hydroxydeepoxyсarcophin (**24**) aus der Koralle *Sarcophyton* sp., die Capnellene (-)-2 α ,8 β ,13-Triacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (**34**), (+)-3 α ,8 β ,14-Triacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (**35**), (+)-3 α ,14-Diacetoхy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-8 β ,10 α -diol (**36**), (+)-3 α ,8 β -Diacetoхy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (**37**), (+)-3 α ,4 α -Epoхy- Δ^{10} -präcapnellen (**38**), (+)- $\Delta^{9(12)}$ -Capnellen-8 β ,10 α -diol (**39**) und (-)-8 β -Acetoхy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (**40**) aus der Koralle *Dendronephthya rubeola*, (-)-3 α -Etoхyфuranocembranoid **28** (+)-Pukalid (**30**), (+)-13 α -Acetoxypukalid (**31**) und Furanocembranoid **32** aus der Koralle *Sinularia asterolobata* untersucht. Alle Verbindungen wurden am Hans-Knöll-Institut in Jena auf ihre antivirale Aktivität, Cytotoхizität und antiproliferative Wirkung sowie in funktionellen Transkriptions-Assays getestet.

Antivirale Testung

Die antivirale Eigenschaft der zu untersuchenden Substanzen wird durch ihre Aktivität, den Virus-induzierten cytopathischen Effekt zu hemmen, bestimmt. Der cytopathische Effekt (zpE) ist die vollständige Zerstörung definierter Wirtszellen durch Replikation einiger Viren, der durch antivirale Verbindungen gehemmt werden kann. Dabei ist es unabhängig, welche Stufe des Replikationscyclus inhiбiert wird [227].

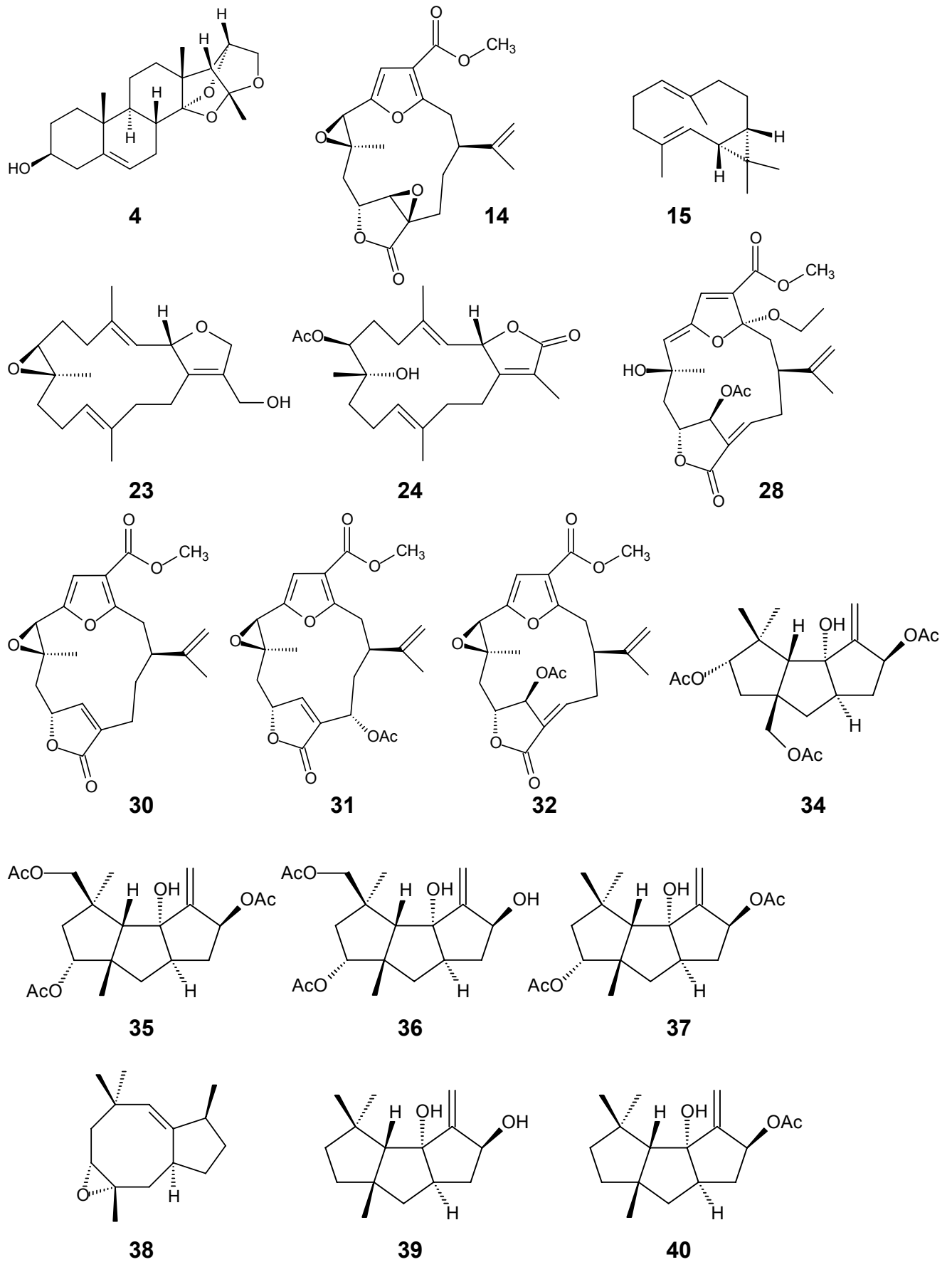


Abb. 82: Strukturen der pharmakologisch getesteten Verbindungen

Die cytopathische-Effekt-Hemmtestung wurde im nicht-cytotoxischen Dosisbereich in den Testsystemen (Virus/Wirtszellen)

- Cocksackievirus B3 Nancy (CVB3)/HeLa-Zellen OHIO und
- Influenzavirus A Hong Kong (Influenza A)/ Madin Darby Kaninchen Nierenzellen (MDCK)

durchgeführt.

Der zpE-Hemmtest gibt keine Hinweise zum Target der antiviralen Wirkung, sondern lediglich auf antivirale Effekte. Bei diesem Verfahren handelt es sich um einen Vortest, der einen hohen Probendurchsatz ermöglicht. Positive Treffer werden in danach folgenden Rezeptorsystemen genau untersucht.

Es konnten nur beim Furanocembranoid (+)-13 α -Acetoxypukalid (**31**) ein schwacher antiviraler Effekt gegen Cocksackievirus B3 und beim Furanocembranoid **32** eine schwache Wirkung gegen Influenzavirus A detektiert werden.

Antiproliferative Wirkung und Cytotoxizität

Die Testungen auf antiproliferative Aktivität (L-929-, K-562-Zelllinie) und Cytotoxizität (HeLa-Zelllinie) erfolgten *in vitro*. Aus der Bestimmung des Zellwachstums und der Zellgrößenverteilung einer Mäusefibroblastenzelllinie L-929 und humaner Leukämiezelllinie K-562 können die GI₅₀-Werte (Konzentration bei 50%iger Wachstumshemmung) ermittelt werden. Der CC₅₀-Wert (Konzentration bei 50%iger Zellabtötung) gibt die Cytolyseaktivität auf HeLa-Zellen (humanes Cervix Karzinom) wieder.

Der Tabelle 29 ist zu entnehmen, dass die Capnellene (–)-8 β -Acetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (**40**) und (+)- $\Delta^{9(12)}$ -Capnellen-8 β ,10 α -diol (**39**) jeweils eine gute antiproliferative Wirkung gegenüber L-929 und eine gute cytotoxische Aktivität gegen HeLa haben. Ebenso zeigen (–)-3 α -Ethoxyfuranocembranoid **28**, (+)-13 α -Acetoxypukalid (**31**) und Furanocembranoid **32** eine gute Antiproliferation in der Untersuchung an murinen Fibroblasten- und humanen Leukämiezellen.

Verbindung	L-929 GI ₅₀ [µg/ml]	Kat.	K-562 GI ₅₀ [µg/ml]	Kat.	HeLa CC ₅₀ [µg/ml]	Kat.
4	> 50	1	> 50	1	> 50	1
14	> 50	1	> 50	1	44.5	1
15	38	1	40.7	1	37.1	1
23	43	1	24	1	50	1
24	50	1	37	1	50	1
28	4.3	2	2.6	2	19.6	1
30	> 50	1	> 50	1	42.2	1
31	4.5	2	4.6	2	28.5	1
32	8.1	2	7.8	2	27	1
34	50	1	50	1	50	1
35	50	1	50	1	50	1
36	44.5	1	50	1	50	1
37	33.3	1	20.9	1	42	1
38	50	1	50	1	42.5	1
39	1.6	2	15.9	1	1.8	2
40	5.8	2	19.7	1	2.6	2

Tab. 29 : Antiproliferative Aktivität (GI₅₀) und Cytotoxizität (CC₅₀) von **4, 14-15, 23-24, 28, 30-32, 34-40** gegenüber den Tumorzelllinien L-929 (Mäusefibroblasten), K-562 (Humanleukämie) und HeLa (humanes Cervix Karzinom); Aktivitätskategorie: 3 = sehr gute Aktivität; 2 = gute Aktivität; 1 = geringe Aktivität

Funktionelle Transkriptions-Assays in Hefe

Suche nach Inhibitoren der Tax/CREB Protein-Protein-Interaktion

Der Retrovirus HTLV-I (humane T-Zellen Leukämie Virus Typ I) befällt T-Lymphozyten und erzeugt die adulte T-Zell-Leukämie sowie die HTLV-I assoziierte Myelopathie. Der Transkriptionsfaktor Tax, der durch das HTLV-I Genom kodiert wird, stellt einen wichtigen Modulator der viralen und zellulären Genexpression dar. Es wird postuliert, dass Tax mit zellulären Proteinen der ATF/CREB-Familie (Transkriptionsfaktoren) interagiert. Des Weiteren können sie durch einen gemeinsamen Angriff an die langen terminalen Wiederholungssequenzen (LTR-Sequenzen) die Transkription viraler Gene steuern und somit die Genexpression kontrollieren. Inhibitoren der Tax/CREB-Interaktion könnten in der Krebstherapie von

Bedeutung sein. Entwickelt wurden die Transkriptions-Assays in *Saccharomyces cerevisiae* von Shnyreva und Munder [228].

Suche nach Inhibitoren der Protein-Protein-Interaktion des onkogenen c-Myc-Transkriptionsfaktors mit seinem Partnerprotein Max

Das im Menschen vorkommende Protoonkogen c-Myc ist das Homologe des transformierenden Onkogens des Myelocytomatosevirus MC29 des Huhns. Es ist bekannt, dass Myc-Protein-Gene in vielen verschiedenen menschlichen Tumorarten durch Mutation verändert vorliegen. Des Weiteren trägt ihre deregulierte Expression kausal zur Entstehung der Tumore bei. Ebenfalls weiß man, dass Myc-Proteine verschiedene Aufgaben haben. Sie regulieren den Zellzyklus oder hemmen die Zelldifferenzierung. Sie können aber auch die Einleitung des programmierten Zelltodes (Apoptose) vermitteln.

Myc bildet mit dem Partnerprotein Max einen heteromeren Transkriptionsfaktor, der an spezifische DNA-Sequenzen, die sog. E-Boxen, bindet. Der Myc/Max-Komplex reguliert als potenter Aktivator einer Reihe von Genen, deren Genprodukte Einfluss auf die Zelltransformation zur Folge haben. Verbindungen mit inhibitorischer Wirkung gegen den Myc/Max-Komplex sind in der Onkologie von therapeutischem Interesse. Im Test wird die Interaktion zwischen Myc und Max in einem Zwei-Hybrid-System ebenfalls in *Saccharomyces cerevisiae* durchgeführt [229].

Suche nach Inhibitoren der Protein-Protein-Interaktion des onkogenen c-Myc-Transkriptionsfaktors mit seinem Partnerprotein Miz-1

Die Myc-Proteine üben neben der vermittelten Genaktivierung auch einen negativen Einfluss auf die Genexpression aus. Das Partnerprotein von Myc Miz-1 (Myc interacting zinc finger protein) kann allein durch Aktivierung bestimmter Gene die Zellteilung vor Eintritt in die Mitose anhalten. Durch die Bildung des Myc/Miz-1-Komplexes kann der Zellzyklusarrest teilweise aufgehoben und eine unkontrollierte Zellvermehrung eingeleitet werden. Spezifische Myc/Miz-1-Antagonisten könnten einen wichtigen Teil zur Hemmung von Tumorbildungen beitragen. Für die Untersuchung wurde wieder ein Zwei-Hybrid-System in *Saccharomyces cerevisiae* verwendet [229].

Ergebnisse der Transkriptions-Assays

Die Untersuchungen ergaben, dass $(-)-8\beta$ -Acetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen- 10α -ol (**40**) eine gute Hemmung der Tax/CREB-Interaktion zeigte und $(+)-7\beta$ -Acetoxy- 8α -hydroxydeepoxysarcophin (**24**), $(-)-3\alpha$ -Ethoxyfuranocembranoid **28**, $(+)-3\alpha,8\beta,14$ -Triacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen- 10α -ol (**35**), $(+)-3\alpha,8\beta$ -Diacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen- 10α -ol (**37**) und $(+)-\Delta^{9(12)}$ -Capnellen- $8\beta,10\alpha$ -diol (**39**) sie schwach inhibieren. Die Capnellene **39** und **40** erwiesen sich als gute Inhibitoren für die Myc/Max-Interaktion, wobei **39** das beste Ergebnis mit einer 77%igen Hemmung aufwies. Die Myc/Miz-1-Interaktion wurde von **39** und **40** schwach gehemmt.

Verbindung	Hemmung der TAX/CREB-Interaktion (%)	Kat.	Hemmung der Myc/Max-Interaktion (%)	Kat.	Hemmung der Myc/Miz-1-Interaktion (%)	Kat.
24	25	1	1	0	3	0
28	33	1	24	0	9	0
35	30	1	31	0	3	0
37	25	1	11	0	13	0
39	27	1	77	2	34	1
40	52	2	52	2	25	1

Tab.30: Hemmung der TAX/CREB- (%), der Myc/Max- (%) und der Myc/Miz-1-Interaktion (%) von **24**, **28**, **35**, **37**, **39-40**; Aktivitätskategorie: 3 = sehr gute Aktivität; 2 = gute Aktivität; 1 = geringe Aktivität

Die beiden Capnellene **39** und **40** zeigen sowohl bei der antiproliferativen Wirkung gegen die L-929- und K-562-Zelllinien, der Cytotoxizität gegenüber der HeLa-Zelllinie als auch bei den drei Transkriptions-Assays hohe Aktivitäten.

4 Experimenteller Teil

4.1 Allgemeines

Lösungsmittel

- Technisches n-Hexan, Cyclohexan, Essigester, Dichlormethan, Chloroform, Ethanol und Methanol wurden einmal destilliert.
- n-Butanol, Diethylether, Aceton, Pyridin, Dimethylsulfoxid, n-Pentan: Merck, p. a.
- Petrolether, hochsiedend, Fluka

Detektion der Substanzflecken

- Fluoreszenzlöschung im UV-Licht (254 nm)
- 20 Gew-% Molybdätdiäthylphosphorsäure (Aldrich Ltd.) in Ethanol

Trimethylsilylierung

Die Probe wurde in Dichlormethan p. a. gelöst und mit 10-15 µl MSTFA (Macherey-Nagel) in einem Spitzbodenglas versetzt und 12h bei Raumtemperatur stehengelassen.

Dünnschichtchromatografie (DC)

Für die analytische und präparative Dünnschichtchromatografie wurden DC-Alufolien Kieselgel 60 F_{254S} Merck und RP-18 F_{254S} Merck verwendet.

Säulenchromatografie

Für die Schwerkraft- und Flash-Säulenchromatografie wurden folgende Füllmaterialien verwendet:

- Kieselgel 60,
Korngröße: 40–63 μm (230–400 mesh ASTM), Merck
- MN Kieselgel 60 M,
Korngröße: 40–63 μm , (230–400 mesh ASTM), Macherey Nagel
(für *Sinularia asterolobata*, *Litophyton arboreum*)
- HD-SIL-15-60,
Korngröße: 15–21 μm , 60 Å, Kronwald
- Sephadex LH-20, Amersham Biosciences

NMR-Spektroskopie

Messgeräte:

- Bruker DRX 500 Spektrometer (^1H : 500.13 MHz, ^{13}C : 125.13 MHz)
Dualer Breitbandprobenkopf invers
- Bruker AC 300 Spektrometer (^1H : 300 MHz, ^{13}C : 75 MHz)
Tripel Probenkopf (^1H , ^{13}C , ^{19}F)

Lösungsmittel: CD_3OD , CDCl_3 oder $\text{DMSO}-d_6$, (Cambridge Isotope Laboratories)

Eichung: Anhand des entsprechenden Lösungsmittelsignals

Lösungsmittel	^1H -NMR	^{13}C -NMR
CDCl_3	7.24 ppm	77.0 ppm
DMSO-D_6	2.49 ppm	39.5 ppm
CD_3OD	3.30 ppm	49.0 ppm

Die chemische Verschiebung δ ist in [ppm] und die Kopplungskonstante J in [Hz] angegeben.

Massenspektrometrie

- Elektronenstoß-Massenspektroskopie (Direkteinlass)

Spektrometer: Finnigan MAT 8500 mit Datensystem MAT SS 300

Ionsisationsenergie: 70 eV

- FAB-Massenspektroskopie

Spektrometer: Finnigan MAT 8500 mit Cs-Kanone

Primärionen: Cs-Kationen, 3 keV

Matrix: Glycerin

- ESI-Massenspektroskopie

Spektrometer: Micromass LCT (Direkteinspritzung)

- HR-ESI-Massenspektroskopie

Spektrometer: Micromass LCT mit LC-Kopplung

Kalibriert mit Brucin als internen Standard

- GC-MS-Kopplung

Gaschromatograf: Varian 3700

Säule: DB-1 WCOT Fused Silica (J & W Scientific),

Länge 30 m, Innendurchmesser 0.32 mm, Filmdicke 0.1 μm

Trärgas: Wasserstoff

Temperaturprogramm: 80°C bis 280°C, 15 min isotherm, Aufheizrate 3K/min

Massenspektrometer: Finnigan MAT 312, 70 eV

Die relative Signalintensität der Fragmentationensignale bezogen auf den Basispeak (100%) ist in Prozent in Klammern angegeben.

Gaschromatografie (GC)

Gaschromatograf: Thermoquest Trace GC

Injektor: Split: 1/30

Trärgas: Wasserstoff

Chrom Card Software

Säule: DB-1 der Firma J&W Scientific

Säulenlänge: 30 m, Innendurchmesser 0.32 mm, Filmdicke 0.1 µm

Temperaturprogramm: 80-280 °C, 15 min isotherm, Heizrate 3K/min

Mitteldruckflüssigkeitschromatografie (MPLC):

Chromatografiepumpe: Büchi B-688

Injektionssystem: Büchi 6-Wege-Hahn

Probensammler: Foxy 200

Druck: ca. 15 bar

Säule: Borosilikatsäule der Firma Büchi (460 x 15 mm) ohne Vorsäule

Kieselgel: Nucleoprep[®] 100-20 (sphärisch), 15-25 µm, Machery-Nagel

Eluens: n-Hexan/EtOAc 50:1

Polarimeter

Die Messung der Drehwerte erfolgte an einem Jasco[®] P-1020 Polarimeter mit einer 1ml-Messzelle (Länge 10 cm). Die verwendeten Lösungsmittel sind in Klammern angegeben.

4.2 *Zizyphus spina-christi*

4.2.1 Extraktion und Isolierung der Verbindungen 1-3

Getrocknetes Pflanzenmaterial (5 kg, Blätter) wurde zerkleinert und mit einem Methanol/Wasser-Gemisch (7:3) extrahiert. Das Lösungsmittel-Gemisch wurde im Vakuum bis zur Trockene eingeengt und der gewonnene Rohextrakt (540 g) in Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wurde nacheinander mit Diethylether und n-Butanol ausgeschüttelt. Der Alkohol wurde im Vakuum abdestilliert und der n-Butanolextrakt (80 g) auf einer Kieselgelsäule vorfraktioniert ($\text{CHCl}_3 \rightarrow \text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:3). Die weitere Auftrennung der Hauptfraktion II (3.5 g) lieferte nach zweimaliger Säulenchromatografie (SC) an Kieselgel ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ Gradient) Fraktion II-1a (700 mg). Die anschließende Chromatografie über Sephadex LH-20 ($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 80:20) ergab die Verbindungen **1** (20 mg), **2** (3 mg) und **3** (15 mg).

4.2.2 Bestimmung der Reihenzugehörigkeit der Monosaccharide

Die zu untersuchende Substanz (250-500 μg) wurde mit 0.5 ml 6%iger HCl innerhalb von 2 Stunden bei 80°C hydrolysiert. Anschließend wurde die Säure im Vakuum abdestilliert und das Hydrolysat bei RT getrocknet. (R)-(-)-2-BuOH wurde unter Schutzgas zu dem Hydrolysat gegeben. Danach wurde für 30 s HCl-Gas in das Reaktionsgemisch eingeleitet und dieses für 3 Stunden bei 80°C gerührt. Das überschüssige Butanol wurde im Vakuum entfernt und das Gemisch mit N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoracetamid (MSTFA) 12 Stunden trimethylsilyliert. Nach dem gleichen Verfahren wurden die Standards durch Umsetzung der entsprechenden Monosaccharide mit (R)-(-)-2-BuOH hergestellt. Die Bestimmung der Retentionszeiten (R_t) und der Retentionsindizes (R_i) erfolgte durch GC.

	R _t	R _i
(<i>R</i>)-2-Butyl-D-glucopyranosid	31.75	2013
(<i>R</i>)-2-Butyl-L-glucopyranosid	31.27	1995
(<i>R</i>)-2-Butyl-D-arabinopyranosid	22.95	1734
(<i>R</i>)-2-Butyl-L-arabinopyranosid	22.66	1725
(<i>R</i>)-2-Butyl-L-rhamnopyranosid	22.88	1732
(<i>R</i>)-2-Butyl-6-deoxy-L-talopyranosid	23.21	1733

Tab. 31: Bestimmung der Reihenzugehörigkeit der Trimethylsilylderivate der (*R*)-2-Butylglycoside

4.2.3 Synthese von 6-Deoxy-L-talopyranosid

Methyl- α/β -L-rhamnopyranosid

L-Rhamnose Monohydrat (1.8 g, 9.88 mmol) wurde in 30 ml Methanol gelöst. Es wurden 900 mg Amberlite IR 120 (H⁺) zugegeben und 72 h unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde das Gemisch über Celite filtriert und durch SC an Kieselgel (CH₂Cl₂/MeOH 7:1) gereinigt. Man erhielt 1.62 g des Diastomerengemisches Methyl- α/β -L-rhamnopyranosid als farblosen Sirup (Ausbeute 92%).

Methyl-2,3-O-isopropyliden- α -L-rhamnopyranosid

Methyl- α/β -L-rhamnopyranosid (1.33 g, 7.46 mmol) wurde in 10 ml abs. Aceton suspendiert. Es wurden 1.56 ml Dimethoxypropan (12.58 mmol) zugegeben und unter Rühren auf 0°C abgekühlt. Anschließend wurden 138.4 μ l der Lewis Säure BF₃ · Et₂O (1.09 mmol) langsam zugetropft und 30 Minuten bei 0°C weitergerührt. Danach wurde die Lösung 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgemisch mit 155 μ l Pyridin (1.92 mmol) neutralisiert und am Rotationsverdampfer im Vakuum das Lösungsmittel entfernt. Die Rohprodukte wurden mittels Flash-SC an Kieselgel (n-Hexan/EtOAc 2:3) gereinigt. Man erhielt 1.49 g Methyl-2,3-O-isopropyliden- α -L-rhamnopyranosid als gelbes Öl (Ausbeute 90%) und 0.11 g Methyl-2,3-O-isopropyliden- β -L-rhamnopyranosid (Ausbeute 7%). Der Vergleich der spektroskopischen Daten (¹H- und ¹³C-NMR) und des Drehwertes von Methyl-2,3-O-isopropyliden- α -L-rhamnopyranosid ($([\alpha]_D^{28} -292.5^\circ, c = 0.22,$

CHCl_3) mit Literaturdaten ($[\alpha]_D -290.7^\circ$, $c = 0.22$, CHCl_3) zeigt eine gute Übereinstimmung [137].

Methyl-6-deoxy-2,3-O-isopropyliden- α -L-lyxo-hexopyranosid-4-ulose

Methyl-2,3-O-isopropyliden- α -L-rhamnopyranosid (1.06 g, 4.86 mmol) wurde mit 4 ml abs. Dimethylsulfoxid und 1 ml abs. Pyridin versetzt und unter N_2 -Atmosphäre gerührt. P_2O_5 (1 g) wurde schnell zugegeben und bei 60°C weitergerührt. Die Reaktion zeigte nach 1.5 h (DC-Kontrolle) unvollständigen Umsatz. Daher wurden nach Abkühlen auf Raumtemperatur weitere 2 ml DMSO, 0.5 ml Pyridin und 1 g P_2O_5 zugegeben und die Lösung wieder bei 60°C gerührt. Nach weiteren 1.5 h (DC-Kontrolle) ist das Edukt vollständig umgesetzt, es zeigten sich aber auch Zersetzungsprodukte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden entsprechend der eingesetzten Menge an Phosphorpentoxid 2 g wasserfreies K_2CO_3 dazugegeben. Zur Hydrolyse des überschüssigen P_2O_5 wurde tropfenweise Wasser zugefügt bis Gasentwicklung einsetzte und so lange weiter zugegeben, bis sie wieder aufhörte. Die erhaltene dunkle Lösung wurde 6-mal mit je 25 ml n-Pentan extrahiert. Die n-Pentanfraktionen wurden vereinigt, über Na_2SO_4 getrocknet, am Rotationsverdampfer zur Trockne eingengt und an einer Kieselgelsäule chromatografiert (n-Hexan/EtOAc 6:1) [138]. Man erhielt 155.4 mg Methyl-6-deoxy-2,3-O-isopropyliden- α -L-lyxo-hexopyranosid-4-ulose (Ausbeute 15%), deren Drehwert ($[\alpha]_D^{28} -106^\circ$, $c = 0.02$, EtOH), mit dem der Literatur ($[\alpha]_D -107^\circ$, $c = 3.5$, EtOH) übereinstimmt [139].

Methyl-6-deoxy-2,3-O-isopropyliden- α -L-talopyranosid

Methyl-6-deoxy-2,3-O-isopropyliden- α -L-lyxo-hexopyranosid-4-ulose (111.2 mg, 0.54 mmol) wurde in Methanol gelöst. NaBH_4 (27 mg, 0.71 mmol) wurde portionsweise innerhalb von 10 Minuten unter Rühren bei Raumtemperatur zugegeben. Nach 1 h wurde die Lösung mit 41 ml Aceton versetzt, über Na_2SO_4 /Celite getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer im Vakuum entfernt. Durch Flash-Chromatografie an Kieselgel (n-Hexan/EtOAc 7:1) erhielt man 63 mg Methyl-6-deoxy-2,3-O-isopropyliden- α -L-talopyranosid (Ausbeute 56%). Der Drehwert von Methyl-6-deoxy-2,3-O-isopropyliden- α -L-talopyranosid

($[\alpha]_D^{25} -11.0^\circ$, $c = 0.90$, EtOH) stimmt gut mit dem der Literatur ($[\alpha]_D^{15.5} -12.0^\circ$, $c = 1.03$, EtOH) überein [135].

Methyl-6-deoxy- α -L-talopyranosid

Methyl-6-deoxy-2,3-O-isopropyliden- α -L-talopyranosid (10 mg, 45.82 μ mol) wurde in 5 ml Methanol mit 2 N HCl zwei Stunden lang bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit einer 3% KOH/MeOH-Lösung neutralisiert, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer im Vakuum entfernt und über eine Flash-Kieselgelsäule (CH₂Cl₂/EtOAc 6:1) chromatografiert. Man erhielt 7.51 mg Methyl-6-deoxy- α -L-talopyranosid (Ausbeute 92%), dessen Drehwerte ($[\alpha]_D^{20} -117.0^\circ$, $c = 0.50$, MeOH; $[\alpha]_D^{22} -107.0^\circ$, $c = 0.45$, H₂O) gut mit den Literaturwerten übereinstimmt ($[\alpha]_D^{20} -117.4^\circ$, $c = 0.90$, MeOH; $[\alpha]_D -106.5^\circ$, $c = 1.05$, H₂O) [135].

6-Deoxy-L-talopyranosid

Zur Entfernung der Schutzgruppe von Methyl-6-deoxy- α -L-talopyranosid wurde mit verschiedenen Methoden (siehe Tabelle 32) gearbeitet, die keine Reaktion zeigten oder zur Zersetzung führten.

Auch bei dem Versuch der Entschützung mit Ph₃C⁺ BF₄⁻ wurde nach 3 Tagen Rühren bei RT kein Umsatz beobachtet [140]. Erst durch 4 tägiges Rühren unter Rückfluß konnte trotz starker Zersetzung 1 mg des entschützten Produktes erhalten werden (Ausbeute 72%), dessen Drehwert ($[\alpha]_D^{26} -19.1^\circ$, $c = 0.01$, H₂O) mit dem der Literatur ($[\alpha]_D -20.5^\circ$, $c = 2.28$, H₂O) gut übereinstimmt [141]. Die Chromatografie erfolgte über Kieselgel (CH₂Cl₂/MeOH 6:1).

2 N HCl	2 d, RT	kein Umsatz
6 N HCl	2 d, RT	kein Umsatz
	5 d, RT	kein Umsatz
konz. HCl	5 h, RT	kein Umsatz
	4 d, RT	kein Umsatz
	2 d, Kochen	kein Umsatz
BBr ₃	30 Minuten	Zersetzung

Tab. 32: Bedingungen zum Abspalten der Methyl-Schutzgruppe

4.3 Extraktion und Isolierung der Verbindungen 6-40 aus marinen Organismen

Die frischen Korallen und der Schwamm wurden zerkleinert und mit Ethanol oder Methanol extrahiert. Die Extrakte wurden am Rotationsverdampfer im Vakuum und Temperaturen unter 45 °C zur Trockene eingengt.

4.3.1 Alge *Enteromorpha flexuosa*

Abweichend vom Korallen- und Schwammmaterial wurde die Alge *Enteromorpha flexuosa* (Wulfen) J. Agardh gesäubert, mit Seewasser gewaschen, bei Raumtemperatur getrocknet und zu Pulver (750 g) gemahlen, das mit Essigester extrahiert wurde und 2.5 g Rohextrakt ergab, der über SC an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 6:3) weiter aufgereinigt wurde. Aus Fraktion I (45 mg) wurde durch präparative DC (Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 9:1) Palmitinsäure (**8**) (10 mg) isoliert. Die Verbindung in Fraktion II (2 mg) wurde durch GC-MS als 7-Oxocholesterol (**7**) charakterisiert. Präparative DC (Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 8:2) der Fraktion III (35 mg) lieferte β -Sitosterol (**6**) (19 mg).

4.3.2 Schwamm *Desmacidon tubular*

Ausgehend von 1307 g frischem Schwammmaterial wurden 54.7 g Rohextrakt erhalten, der mit Wasser aufgenommen und mit n-Hexan ausgeschüttelt wurde. Der n-Hexanextrakt (5 g) wurde mittels SC an Kieselgel (n-Hexan \rightarrow n-Hexan/EtOAc 9:4) vorgereinigt. Von den drei Hauptfraktionen wurde Fraktion I (400 mg) weiter über SC an Kieselgel (n-Hexan/EtOAc 9:1) aufgetrennt. Aus Fraktion I-1 (212 mg) konnte durch SC an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 4:1) ein schwer trennbares Steroidgemisch I-1a (140 mg) isoliert werden, welches nach Trimethylsilylierung mittels GC-MS charakterisiert wurde.

4.3.3 Koralle *Palythoa* sp.

Aus 221 g frischem Korallenmaterial wurden 8 g an ethanolischem Rohextrakt erhalten. Dessen wässrige Phase wurde mit Methylenchlorid extrahiert. Die

Auftrennung des Methylenchloridextraktes (2 g) erfolgte mittels SC an Sephadex LH-20 mit Methanol. Fraktion II (40 mg) lieferte durch SC an Kieselgel (n-Hexan/EtOAc Gradient) zwei weitere Fraktionen II-1 (25 mg) und II-2 (20 mg). Aus Fraktion II-1 wurde durch erneute Chromatografie über eine Kieselgelsäule (n-Hexan/EtOAc 7:3 → 6:4) Verbindung **9** (11 mg) gewonnen. Verbindung **10** (8 mg) erhielt man durch SC an Kieselgel (n-Hexan/EtOAc 6:4) aus Fraktion II-2.

4.3.4 Koralle *Sarcophyton tenuispiculatum*

Aus 935 g Korallenmaterial wurden 44.5 g ethanolischer Rohextrakt erzeugt und dessen wässrige Phase mit Methylenchlorid ausgeschüttelt. Der Methylenchloridextrakt (16.3 g) wurde durch Chromatografie an einer Kieselgelsäule (n-Hexan → n-Hexan/EtOAc Gradient) vorfraktioniert. Eine erneute SC der Fraktion I (252 mg) an Kieselgel (n-Hexan/EtOAc 9:1 → 9:3) ergab das Steroidegemisch I-2 (2.5 mg), in dem nach Trimethylsilylierung mithilfe von GC-MS die Verbindungen TMS-**9** und TMS-**11** identifiziert wurden.

4.3.5 Koralle *Nephthea* sp.

Frisches Korallenmaterial (1450 g) wurde mit Methanol extrahiert und ergab 9.5 g Rohextrakt, der anschließend säulenchromatografisch an Kieselgel (n-Hexan → n-Hexan/EtOAc Gradient) in drei Hauptfraktionen getrennt wurde. Fraktion I (52 mg) lieferte über SC an Kieselgel mit n-Hexan Fraktion I-1 (14 mg), welche nach Trimethylsilylierung mit GC-MS weiter untersucht wurde. Fraktion II (78 mg) wurde mittels präparativer DC (Kieselgel, n-Hexan/EtOAc 9:1) aufgetrennt und ergab Verbindung **13** (11 mg) und das Steroidgemisch II-2 (9 mg). Die Hauptkomponenten dieses Gemisches wurden nach Trimethylsilylierung durch GC-MS charakterisiert. Das Cembranoid **12** (8 mg) wurde durch präparative DC (Kieselgel, n-Hexan/EtOAc 85:15) aus Fraktion III (32 mg) isoliert.

4.3.6 Koralle *Litophyton arboreum*

Von 321 g frischem Korallenmaterial erhielt man 14 g ethanolischen Rohextrakt. Verteilung zwischen Wasser und Methylenchlorid erbrachte 2.3 g Methylenchloridextrakt, der durch SC an Kieselgel (CH_2Cl_2 → $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 9:6) gereinigt

wurde. Fraktion I (693 mg) ergab durch SC an Kieselgel (n-Hexan) I-1 (23 mg), aus welcher durch weitere SC an Kieselgel (Cyclohexan) das Sesquiterpen **15** (12 mg) isoliert werden konnte. SC an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 20:2) von Fraktion II (531 mg) lieferte Fraktion II-1 (49 mg) und II-2 (107 mg). Nach erneuter Chromatografie der Fraktion II-1 an einer Kieselgelsäule (n-Hexan/EtOAc 3:1) erhielt man das Furanocembranoid **14** (20 mg). Das resultierende Steroidgemisch II-2a (67 mg) wurde aus Fraktion II-2 durch SC an Kieselgel (n-Hexan/EtOAc 7:1) erhalten und nach Trimethylsilylierung mittels GC-MS identifiziert.

4.3.7 Koralle *Sarcophyton trocheliophorum*

Aus 1750 g Korallenmaterial wurden 8.5 g ethanolischer Rohextrakt gewonnen und durch SC an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ Gradient) in drei Hauptfraktionen unterteilt. Fraktion I (208 mg) lieferte durch eine weitere SC an Kieselgel (n-Hexan/EtOAc Gradient) zwei Steroidfraktionen I-1 (4 mg) und I-2 (9 mg), die nach Trimethylsilylierung mittels GC-MS charakterisiert wurden. Aus Fraktion II (134 mg) wurde durch präparative DC (RP-18, $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 7:3) das Cembranoid **16** (4 mg) isoliert.

4.3.8 Koralle *Sarcophyton glaucum*

Aus 2140 g Korallenmaterial konnten 25.2 g methanolischer Rohextrakt gewonnen werden, der durch SC an Kieselgel (n-Hexan \rightarrow n-Hexan/EtOAc Gradient) in drei Hauptfraktionen aufgetrennt wurde. Fraktion I (15 mg) lieferte durch präparative DC (Kieselgel, n-Hexan/EtOAc 14:7) Fraktion I-1 (2.5 mg), welche nach Trimethylsilylierung durch GC-MS als Verbindung TMS-**9** identifiziert wurde. Das Cembranoid **17** (3 mg) wurde über präparative DC (RP-18, $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 14:8) aus Fraktion II (17 mg) gewonnen. Fraktion III (26 mg) ergab mittels präparativer DC (RP-18, $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 16:3) das Cembranoid **18** (4 mg).

4.3.9 Koralle *Sinularia polydactyla*

Die Vorfraktionierung des aus 3700 g Korallenmaterial hergestellten methanolischen Rohextraktes (28 g) erfolgte durch SC an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ Gradient). Fraktion I (32 mg) ergab durch präparative DC (Kieselgel, n-Hexan/EtOAc

17:3) das Cembranoid **19** (6 mg). Fraktion II (58 mg) lieferte nach präparative DC (RP-18, MeOH/H₂O 9:1) die Verbindungen **20** (9 mg) und **21** (5 mg). Präparative DC (Kieselgel, n-Hexan/EtOAc 8:2) von Fraktion III (34 mg) führte zu Verbindung **22** (7 mg).

4.3.10 Koralle *Sarcophyton* sp.

Der methanolische Rohextrakt (31.1 g) aus 2500 g Korallenmaterial wurde über SC an Kieselgel (n-Hexan → n-Hexan/EtOAc Gradient) in vier Hauptfraktionen (I (30 mg), II (55 mg), III (20 mg), VI (15 mg)) getrennt. Aus Fraktion I konnte durch präparative DC (Kieselgel, n-Hexan/EtOAc 20:3) Verbindung **27** isoliert werden. Nachdem die NMR-Spektren zeigten, dass es sich um ein Elemen-Derivat handelte, aber durch das ROESY-Spektrum keine weiteren Angaben gemacht werden konnten, wurde die Probe **27** mithilfe von GC-MS als β -Elemen identifiziert. Aus Fraktion II resultierten nach präparativer DC (RP-18, MeOH/H₂O 17:3) die Cembranoide **24** (5 mg) und **25** (3.5 mg). Die präparative DC (Kieselgel, n-Hexan/EtOAc 18:3.5) von Fraktion III ergab das Enantiomeren-Gemisch **26** (3 mg). Das Cembranoid **23** (2.5 mg) erhielt man durch präparative DC (Kieselgel, n-Hexan/EtOAc 7:3) der Fraktion IV (15 mg).

4.3.11 Koralle *Sinularia asterolobata*

Aus 23 g ethanolischem Rohextrakt, der aus 496 g Korallenmaterial gewonnen wurde, konnten durch Verteilung zwischen Wasser und Methylenchlorid 6.5 g Methylenchloridextrakt erhalten werden. Die Auftrennung des Methylenchlorid-extraktes in fünf Hauptfraktionen erfolgte durch SC an Kieselgel (CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/EtOAc 9:5). Fraktion I (230 mg) ergab durch erneute Chromatografie über eine Kieselgelsäule (n-Hexan/EtOAc 15:1) Komponente I-1 (135 mg). Diese wurde weiter durch SC an Kieselgel (n-Hexan/EtOAc 40:1) untersucht und lieferte Fraktion I-1a (63 mg), welche mittels MPLC (n-Hexan/EtOAc 50:1) zu Reinverbindung **33** (14 mg) gereinigt wurde. Fraktion II (385 mg) wurde über eine Kieselgelsäule chromatografiert (n-Hexan/EtOAc 4:1 → n-Hexan/EtOAc 3:1). Man erhielt **32** (45 mg) und zwei weitere Fraktionen II-2 (2 mg) und II-3 (18 mg), wobei letztere über SC an Kieselgel (n-Hexan/EtOAc 4:1) die Reinsubstanz **30** (8 mg) ergab. SC an Kieselgel

der Fraktion III (71 mg) erbrachte ein Steroidegemisch III-1 (25 mg), das nach Trimethylsilylierung mithilfe von GC-MS charakterisiert wurde. Die Fraktion IV (156 mg) wurde einer SC an Kieselgel (n-Hexan/EtOAc 2:1) unterworfen (IV-1 (22 mg), IV-2 (3 mg)). Anschließende Aufreinigung der Fraktion IV-1 über Kieselgel lieferte **31** (11 mg). Eine Kieselgelsäule der Fraktion V (139 mg) führte zu Verbindung **28** (34 mg) und **29** (16 mg).

4.3.12 Koralle *Dendronephthya rubeola*

Von 258 g Korallenmaterial wurden 13 g ethanolischer Rohextrakt erhalten, dessen wässrige Phase mit Methylenchlorid ausgeschüttelt wurde. Der erhaltene Methylenchloridextrakt (6.3 g) wurde an einer Kieselgelsäule in sechs Hauptfraktionen aufgetrennt ($\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 9:5). Die Verbindung **38** (9 mg) wurde durch SC an Kieselgel (n-Hexan/EtOAc 19:1) aus Fraktion I (34 mg) isoliert. Fraktion II (336 mg) erbrachte durch SC an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 20:1) Fraktion II-1 (68 mg) und II-2 (15 mg). Fraktion II-1 (68 mg) ergab nach SC an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 7:1) die Verbindung **40** (22 mg) und ein Steroidegemisch II-1a (30 mg), in dem nach Trimethylsilylierung durch GC-MS Verbindung TMS-**9** und TMS-**11** gefunden wurde. Die Chromatografie der Fraktion III (56 mg) über eine Kieselgelsäule ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 20:1) lieferte Verbindung **37** (13 mg). Fraktion IV (434 mg) wurde mittels SC an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 15:1) weiter in IV-I (262 mg) und IV-2 (15 mg) getrennt, wobei erstere Fraktion erneut über Kieselgel (n-Hexan/EtOAc 4:1) chromatografiert wurde (IV-1a (89 mg), IV-1b (21 mg)). Da das ^1H -NMR-Spektrum von IV-1a zeigte, dass diese Fraktion ein Gemisch zweier Verbindungen war, wurden durch SC an HD-SIL-15-60 (n-Hexan/EtOAc 3:1) die Capnellene **35** (9 mg) und **34** (11 mg) gewonnen. Eine weitere Kieselgelsäule ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 9:2) der Fraktion V (139 mg) ergab die Verbindung **39** (24 mg). Verbindung **36** (10 mg) wurde durch SC an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 3:2) aus Fraktion VI (47 mg) erhalten.

4.4 Spektroskopische Daten der isolierten Verbindungen

3-O-[[6-Deoxy- α -L-talopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl]-jujubogenin (**1**): C₄₇H₇₆O₁₇, M_r 912. FAB-MS (neg. Ionenmodus) m/z: 911 [M-H]⁻ (19). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabellen 2-3.

3-O-[[α -L-Rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl]-jujubogenin (**2**): C₄₇H₇₆O₁₇, M_r 912. FAB-MS (neg. Ionenmodus) m/z: 911 [M-H]⁻ (87), 749 [M-H-Glc]⁻ (36), 603 [M-H-Glc-Rha]⁻ (7). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabellen 2-3.

Kämpferol 3-O-robinobiosid (**3**): C₂₇H₃₀O₁₅, M_r 594. FAB-MS (neg. Ionenmodus) m/z: 593 [M-H]⁻ (18). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 4.

(14*S*,16*S*,20*R*)-14,16-14,20-15,20-Trieпоxy-14,15-secopregn-5-en-3 β -ol (**4**): C₂₁H₃₀O₄, M_r 346. $[\alpha]_D^{24} -14^\circ$ (c = 0.53, CHCl₃). EI-MS m/z: 346 [M]⁺ (65); ESI-MS m/z: 369 [M+Na]⁺ (100); HR-ESI-MS m/z: 369.2033 [M+Na]⁺; ber. für C₂₁H₃₀O₄Na⁺ 369.2042. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 5.

Stemmosid A (**5**): C₂₇H₄₀O₉, M_r 508. $[\alpha]_D^{25} +12^\circ$ (c = 0.50, MeOH). ESI-MS m/z: 531 [M+Na]⁺ (100); HR-ESI-MS m/z: 531.2612 [M+Na]⁺; ber. für C₂₇H₄₀O₉Na⁺ 531.2570. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 6.

β -Sitosterol (**6**): C₂₉H₅₀O, M_r 414. EI-MS m/z: 414 [M]⁺ (100), 399 (30), 396 (45), 381 (24), 329 (36), 303 (42), 275 (17), 255 (27), 229 (9), 213 (21), 173 (17), 159 (30), 145 (39), 121 (24), 95 (39). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 7.

7-Oxocholesterol (**7**): C₂₇H₄₄O₂, M_r 400. EI-MS m/z: 400 [M]⁺ (46), 367 (11), 343 (4), 318 (2), 287 (32), 245 (14), 205 (21), 192 (49), 161 (35), 135 (21), 91 (18).

Palmitinsäure (**8**): C₁₆H₃₂O₂, M_r 256. EI-MS m/z: 256 [M]⁺ (86), 239 (2), 213 (49), 199 (17), 171 (23), 157 (24), 143 (14), 129 (70), 97 (24), 73 (100), 60 (88), 43 (84).

GC-MS von I-1a: Trimethylsilylcholesterol ($C_{30}H_{54}OSi$, M_r 458, m/z 458 $[M]^{+\cdot}$ (14)), Trimethylsilylfecosterol ($C_{31}H_{54}OSi$, M_r 470, m/z 470 $[M]^{+\cdot}$ (16)), Trimethylsilylstigmasterol ($C_{32}H_{56}OSi$, M_r 484, m/z 484 $[M]^{+\cdot}$ (23)), 3β -Trimethylsilyloxy-4,4-dimethylcholest-5-en ($C_{32}H_{58}OSi$, M_r 486, m/z 486 $[M]^{+\cdot}$ (36)).

24 ξ -Methylcholesterol (**9**): $C_{28}H_{48}O$, M_r 400. EI-MS m/z : 400 $[M]^{+\cdot}$ (100), 385 (12), 382 (21), 367 (14), 315 (21), 289 (18), 273 (11), 255 (14), 213 (14), 105 (11), 43 (14). 1H - und ^{13}C -NMR-Daten s. Tabelle 8.

7 α -Hydroxy-24 ξ -methylcholesterol (**10**): $C_{28}H_{48}O_2$, M_r 416. EI-MS m/z : 416 $[M]^{+\cdot}$ (4), 398 $[M-H_2O]^{+\cdot}$ (100). 1H - und ^{13}C -NMR-Daten s. Tabelle 8.

GC-MS von I-2: Trimethylsilyl-24 ξ -methylcholesterol (TMS-**9**) ($C_{31}H_{56}OSi$, M_r 472, m/z 472 $[M]^{+\cdot}$ (28)), Trimethylsilylgorgosterol (TMS-**11**) ($C_{33}H_{58}OSi$, M_r 498, m/z 498 $[M]^{+\cdot}$ (22)).

(-)-Nephtenol (**12**): $C_{20}H_{34}O$, M_r 290. $[\alpha]_D^{23} -35^\circ$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$). EI-MS m/z : 290 $[M]^{+\cdot}$ (1), 272 $[M-H_2O]^{+\cdot}$ (46), 257 $[M-18-15]^+$ (10), 229 (15), 189 (16), 148 (27), 121 (50), 107 (55), 98 (86), 81 (100), 59 (100), 41 (72); ESI-MS m/z : 313 $[M+Na]^+$. 1H - und ^{13}C -NMR-Daten s. Tabelle 9.

24-Methylencholesterol (**13**): $C_{28}H_{46}O$, M_r 398. EI-MS m/z : 398 $[M]^{+\cdot}$ (16), 383 (15), 380 (5), 314 (100), 299 (20), 281 (16), 271 (42), 255 (16), 229 (14), 213 (26), 159 (26), 133 (32), 107 (45), 55 (85). GC-MS von Trimethylsilyl-24-methylencholesterol m/z : 470 $[M+TMS]^{+\cdot}$ (35). 1H - und ^{13}C -NMR-Daten s. Tabelle 10.

GC-MS von II-2: Trimethylsilyl-24 ξ -methylcholesterol (TMS-**9**) ($C_{31}H_{56}OSi$, M_r 472, m/z 472 $[M]^{+\cdot}$ (27)) und Trimethylsilylgorgosterol (TMS-**11**) ($C_{33}H_{58}OSi$, M_r 498, m/z 498 $[M]^{+\cdot}$).

GC-MS von I-1: Trimethylsilylpalmitinsäure (TMS-**8**) ($C_{19}H_{40}O_2Si$, M_r 328, m/z 328 $[M]^{+\cdot}$ (2)), Trimethylsilylölensäure ($C_{21}H_{42}O_2Si$, M_r 354, m/z 354 $[M]^{+\cdot}$ (2)).

(-)-11 β ,12 β -Epoxyypukalid (**14**): C₂₁H₂₄O₇, M_r 388. $[\alpha]_D^{25}$ -5.1° (c = 0.01, MeOH). EI-MS m/z: 388 [M]⁺ (52), 373 (16), 356 (31), 328 (16), 208 (53), 179 (34), 168 (58), 137 (36). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 11.

(-)-Bicyclogermacren (**15**): C₁₅H₂₄, M_r 204. $[\alpha]_D^{25}$ -60° (c = 0.85, Aceton). EI-MS m/z: 204 [M]⁺ (18), 189 (11), 161 (21), 136 (18), 121 (100), 107 (59), 93 (79). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 12.

GC-MS von II-2a: Trimethylsilylcholesterol (C₃₀H₅₄OSi, M_r 458, m/z 458 [M]⁺ (28)), Trimethylsilyl-24 ξ -methylcholesterol (TMS-**9**) (C₃₁H₅₆OSi, M_r 472, m/z 472 [M]⁺ (32)), Trimethylsilylgorgosterol (TMS-**11**) (C₃₃H₅₈O, M_r 498, m/z 498 [M]⁺ (14)).

(-)-7 β -Hydroxy-8 α -methoxydeepoxysarcophin (**16**): C₂₁H₃₂O₄, M_r 348. $[\alpha]_D^{24}$ -23° (c = 0.53, CHCl₃). ESI-MS m/z: 371 [M+Na]⁺ (100); HR-ESI-MS m/z: 371.2209 [M+Na]⁺; ber. für C₂₁H₃₂O₄Na⁺ 371.2198. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 13.

GC-MS von I-2: Trimethylsilylpregnenolon (C₂₄H₄₀O₂Si, M_r 388, m/z 388 [M]⁺ (28)), Trimethylsilylcholesterol (C₃₀H₅₄OSi, M_r 458, m/z 458 [M]⁺ (28)), Trimethylsilyl-24 ξ -methylcholesterol (TMS-**9**) (C₃₁H₅₆OSi, M_r 472, m/z 472 [M]⁺ (38)), Trimethylsilyl-stigmasterol (C₃₂H₅₆OSi, M_r 484, m/z 484 [M]⁺ (5)), Trimethylsilylschottenol (C₃₂H₅₈OSi, M_r 486, m/z 486 [M]⁺ (100)), Trimethylsilylpalmitinsäure (TMS-**8**) (C₁₉H₄₀O₂Si, M_r 328, m/z 328 [M]⁺ (4)).

GC-MS von I-1: Trimethylsilyl-22(*E*)-cholest-5,22-dien-3 β -ol (C₃₀H₅₂OSi, M_r 456, m/z 456 [M]⁺ (10)), Trimethylsilylcholesterol (C₃₀H₅₄OSi, M_r 458, m/z 458 [M]⁺ (31)), Trimethylsilylzymosterol (C₃₀H₅₂OSi, M_r 456, m/z 456 [M]⁺ (18)), Trimethylsilyl-24 ξ -methylcholesterol (TMS-**9**) (C₃₁H₅₆OSi, M_r 472, m/z 472 [M]⁺ (39)), Trimethylsilyl-stigmasterol (C₃₂H₅₆OSi, M_r 484, m/z 484 [M]⁺ (5)), Trimethylsilylgorgosterol (TMS-**11**) (C₃₃H₅₈OSi, M_r 498, m/z 498 [M]⁺ (18)).

(+)-7 β -Hydroxy-8 α -methoxydeepoxysarcophytoxid (**17**): C₂₁H₃₄O₃, M_r 334. $[\alpha]_D^{25} +9^\circ$ (c = 0.1, CHCl₃). ESI-MS m/z: 357 [M+Na]⁺ (100). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 14.

(+)-7 α ,8 β -Dihydroxydeepoxysarcophytoxid (**18**): C₂₀H₃₂O₃, M_r 320. $[\alpha]_D^{25} +138^\circ$ (c = 0.5, CHCl₃). ESI-MS m/z: 343 [M+Na]⁺ (100). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 14.

GC-MS von I-1: Trimethylsilyl-24 ξ -methylcholesterol (TMS-**9**) (C₃₁H₅₆OSi, M_r 472, m/z 472 [M]⁺ (32)).

(+)-Polydactylid (**19**): C₂₀H₃₀O₅, M_r 350. $[\alpha]_D^{25} +11^\circ$ (c = 0.1, CHCl₃). ESI-MS m/z: 373 [M+Na]⁺ (100); HR-ESI-MS m/z: 373.1951 [M+Na]⁺; ber. für C₂₀H₃₀O₅Na⁺ 373.1991. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 15.

(+)-7 α ,8 β -Dihydroxydeepoxysarcophin (**20**): C₂₀H₃₀O₄, M_r 334. $[\alpha]_D^{25} +2^\circ$ (c = 0.22, CHCl₃). ESI-MS m/z: 357 [M+Na]⁺ (100). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 16.

(+)-Sarcophin (**21**): C₂₀H₂₈O₃, M_r 316. $[\alpha]_D^{24} +93^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). ESI-MS m/z: 339 [M+Na]⁺ (100). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 16.

(+)-Sarcophytoxid (**22**): C₂₀H₃₀O₂, M_r 302. $[\alpha]_D^{24} +167^\circ$ (c = 1.8, CHCl₃), $[\alpha]_D^{25} +152^\circ$ (c = 1.0, MeOH). ESI-MS m/z: 325 [M+Na]⁺ (100). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 16.

(+)-17-Hydroxysarcophytoxid (**23**): C₂₀H₃₀O₃, M_r 318. $[\alpha]_D^{26} +51^\circ$ (c = 0.24, CHCl₃). ESI-MS m/z: 341 [M+Na]⁺ (100); HR-ESI-MS m/z: 341.2095 [M+Na]⁺, ber. für C₂₀H₃₀O₃Na 341.2093. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 17.

(+)-7 β -Acetoxy-8 α -hydroxydeepoxysarcophin (**24**): C₂₂H₃₂O₅, M_r 376. $[\alpha]_D^{26} +89^\circ$ (c = 0.45, CHCl₃). ESI-MS m/z: 399 [M+Na]⁺ (100); HR-ESI-MS m/z: 399.2155 [M+Na]⁺, ber. für C₂₂H₃₂O₅Na 399.2147. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 17.

(+)-7 β ,8 α -Dihydroxydeepoxysarcophin (**25**): C₂₀H₃₀O₄, M_r 334. $[\alpha]_D^{27} +103^\circ$ (c = 0.15, CHCl₃). ESI-MS m/z: 357 [M+Na]⁺ (100). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 17.

(±)-Sarcophytonin A (**26**): C₂₀H₃₀O, M_r 286. $[\alpha]_D^{25} -90^\circ$ (c = 0.98, CHCl₃). EI-MS m/z: 286 [M]⁺· (7), 271 (5), 203 (9), 175 (15), 163 (18), 149 (21), 136 (26), 135 (44), 121 (15), 107 (19), 93 (27), 91 (37), 67 (57). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 18.

(-)- β -Elemen (**27**): C₁₅H₂₄, M_r 204. $[\alpha]_D^{24} -17^\circ$ (c = 0.2, CHCl₃). GC-MS m/z: 204 [M]⁺· (4). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 19.

(-)-3 α -Ethoxyfuranocembranoid **28**: C₂₅H₃₂O₉, M_r 476. $[\alpha]_D^{28} -3.4^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). EI-MS m/z: 476 [M]⁺· (4); ESI-MS m/z: 499 [M+Na]⁺ (100); HR-ESI-MS m/z: 499.1923 [M+Na]⁺, ber. für C₂₅H₃₂O₉Na 499.1944. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 20.

(-)-Danielid (**29**): C₂₅H₃₀O₁₀, M_r 490. $[\alpha]_D^{28} -45^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). ESI-MS m/z: 513 [M+Na]⁺ (100); HR-ESI-MS m/z: 513.1735 [M+Na]⁺, ber. für C₂₅H₃₀O₁₀Na 513.1737. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 20.

(+)-Pukalid (**30**): C₂₁H₂₄O₆, M_r 372. $[\alpha]_D^{24} +28^\circ$ (c = 0.75, CHCl₃). EI-MS m/z: 372 [M]⁺· (49), 340 (22), 315 (17), 276 (22), 208 (100), 168 (70), 165 (75). M.p. 198-200. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 20.

(+)-13 α -Acetoxypukalid (**31**): C₂₃H₂₆O₈, M_r 430. $[\alpha]_D^{24} +22^\circ$ (c = 0.8, CHCl₃). EI-MS m/z: 430 [M]⁺· (7), 370 (11), 338 (14), 295 (12), 261 (15), 221 (12), 219 (11), 208 (26), 195 (12), 179 (13), 168 (23), 165 (48). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 21.

Furanocembranoid **32**: C₂₃H₂₆O₈, M_r 430. $[\alpha]_D^{24} -177^\circ$ (c = 0.97, CHCl₃). EI-MS m/z: 430 [M]⁺· (16), 399 (8), 371 (9), 356 (14), 339 (14), 261 (11), 222 (16), 219 (22), 137 (100). ¹H- und ¹³C-NMR-Daten s. Tabelle 21.

(1'*E*,5'*E*)-5-(2',6'-Dimethylocta-1',5',7'-trienyl)-furan-3-carbonsäuremethylester (**33**): $C_{16}H_{20}O_3$, M_r 260. EI-MS m/z : 260 $[M]^{+\cdot}$ (16), 179 (68), 147 (100). 1H - und ^{13}C -NMR-Daten s. Tabelle 22.

GC-MS von III-1: Trimethylsilylcholesterol ($C_{30}H_{54}OSi$, M_r 458, m/z 458 $[M]^{+\cdot}$ (38)), Trimethylsilylgorgosterol (TMS-**11**) ($C_{33}H_{58}OSi$, M_r 498, m/z 498 $[M]^{+\cdot}$ (45)), Trimethylsilylstigmasterol ($C_{32}H_{56}OSi$, M_r 484, m/z 484 $[M]^{+\cdot}$ (27)), Trimethylsilylfecosterol ($C_{31}H_{54}OSi$, M_r 470, m/z 470 $[M]^{+\cdot}$ (55)).

(-)-2 α ,8 β ,13-Triacetoxyl- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (**34**): $C_{21}H_{30}O_7$, M_r 394. $[\alpha]_D^{26} -17^\circ$ ($c = 0.72$, $CHCl_3$). EI-MS m/z : 394 $[M]^{+\cdot}$ (1), 334 $[M-AcOH]^+$ (14), 274 (35), 214 (49), 201 (22), 167 (36), 121 (48), 107 (100), 94 (53), 43 (88); HR-ESI-MS m/z : 417.1879 $[M+Na]^+$, ber. für $C_{21}H_{30}O_7Na$ 417.1889. 1H - und ^{13}C -NMR-Daten s. Tabelle 23.

(+)-3 α ,8 β ,14-Triacetoxyl- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (**35**): $C_{21}H_{30}O_7$, M_r 394. $[\alpha]_D^{24} +1.7^\circ$ ($c = 0.88$, $CHCl_3$). EI-MS m/z : 394 $[M]^{+\cdot}$ (1), 334 $[M-AcOH]^+$ (14), 274 (35), 214 (49), 201 (22), 167 (36), 121 (48), 107 (100), 94 (53), 43 (88); HR-ESI-MS m/z : 417.1879 $[M+Na]^+$, ber. für $C_{21}H_{30}O_7Na$ 417.1889. 1H - und ^{13}C -NMR-Daten s. Tabelle 24.

(+)-3 α ,14-Diacetoxyl- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-8 β ,10 α -diol (**36**): $C_{19}H_{28}O_6$, M_r 352. $[\alpha]_D^{23} +28^\circ$ ($c = 0.8$, $CHCl_3$). EI-MS m/z : 352 $[M]^{+\cdot}$ (0.5), 334 $[M-H_2O]^+$ (1), 292 $[M-AcOH]^+$ (5), 282 (9), 274 (7), 232 (7), 219 (13), 217 (3), 214 (11), 201 (8), 199 (5), 121 (38), 120 (45), 112 (27), 108 (43), 107 (100); HR-ESI-MS m/z : 375.1785 $[M+Na]^+$, ber. für $C_{19}H_{28}O_6Na$ 375.1784. 1H - und ^{13}C -NMR-Daten s. Tabelle 25.

(+)-3 α ,8 β -Diacetoxyl- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (**37**): $C_{19}H_{28}O_5$, M_r 336. $[\alpha]_D^{25} +2.2^\circ$ ($c = 1.33$, $CHCl_3$). EI-MS m/z : 276 $[M-AcOH]^+$ (11), 216 (62), 167 (20), 131 (11), 123 (45), 109 (100); HR-ESI-MS m/z : 359.1829 $[M+Na]^+$, ber. für $C_{19}H_{28}O_5Na$ 359.1834. 1H - und ^{13}C -NMR-Daten s. Tabelle 26.

(+)-3 α ,4 α -Epoxy- Δ^{10} -präcapnellen (**38**): $C_{15}H_{24}O$, M_r 220. $[\alpha]_D^{24} +42^\circ$ ($c = 0.57$, $CHCl_3$). EI-MS m/z : 220 $[M]^{+\cdot}$ (5), 164 (12), 149 (15), 131 (27), 121 (38), 107 (40), 93

(57), 81 (57), 55 (55) 41 (100); HR-ESI-MS m/z : 243.1723 $[M+Na]^+$, ber. für $C_{15}H_{24}ONa$ 243.1725. 1H - und ^{13}C -NMR-Daten s. Tabelle 27.

(+)- $\Delta^{9(12)}$ -Capnellen-8 β ,10 α -diol (**39**): $C_{15}H_{24}O_2$, M_r 236. $[\alpha]_D^{25} +91^\circ$ ($c = 1$, $CHCl_3$). EI-MS m/z : 236 $[M]^+$ (2), 218 $[M-H_2O]^+$ (13), 203 (21), 185 (5), 166 (10), 149 (8), 147 (3), 126 (36), 112 (100), 109 (97); HR-ESI-MS m/z : 259.1668 $[M+Na]^+$, ber. für $C_{15}H_{24}O_2Na$ 259.1674. 1H - und ^{13}C -NMR-Daten s. Tabelle 28.

(-)-8 β -Acetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (**40**): $C_{17}H_{26}O_3$, M_r 278. $[\alpha]_D^{22} -2.6^\circ$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$). EI-MS m/z : 278 $[M]^+$ (1), 218 $[M-AcOH]^+$ (23), 167 (7), 131 (5), 109 (30), 94 (100); HR-ESI-MS m/z : 301.1783 $[M+Na]^+$, ber. für $C_{17}H_{26}O_3Na$ 301.1780. 1H - und ^{13}C -NMR-Daten s. Tabelle 28.

GC-MS von II-1a: Trimethylsilyl-24 ξ -methylcholesterol (TMS-**9**) ($C_{31}H_{56}OSi$, M_r 472, m/z 472 $[M]^+$ (39)), Trimethylsilylgorgosterol (TMS-**11**) ($C_{33}H_{58}OSi$, M_r 498, m/z 498 $[M]^+$ (45)).

5 Zusammenfassung

Etwa 70% der Erdoberfläche sind von Wasser bedeckt, in dem mehr als 500.000 Arten von marinen Organismen leben. Das Leben unter Wasser unterscheidet sich deutlich von dem an Land. Marine Tiere und Pflanzen leben in einem geschlossenen Ökosystem mit hohem Salzgehalt, hohem Druck und relativ konstanter Temperatur. So kann man erwarten, dass marine Organismen Inhaltsstoffe produzieren, die sich in ihren Strukturen deutlich von denen an Land lebenden Organismen unterscheiden. Marine Korallen, Schwämme und Algen stellen somit eine reichhaltige Quelle für die Isolierung von neuen Naturstoffen dar, die ein großes pharmakologisches Potential besitzen. Zu ihnen gehören u. a. Sesquiterpene, Diterpene und Steroide, von denen einige cytotoxische, ichthyotoxische, antibakterielle, entzündungshemmende, antivirale, insektizide und immunmodulierende Eigenschaften besitzen. Dieses Potential ist für die Medizin im Wesentlichen nur dann effektiv nutzbar, wenn die Strukturen und Bioaktivitäten der Naturstoffe ermittelt werden können.

Die Korallen *Dendronephthya rubeola*, *Sinularia asterolobata* und *Sarcophyton tenuispiculatum* sowie der Schwamm *Desmacidon tubular* sind zuvor noch nicht auf ihre Inhaltsstoffe untersucht worden. Von den Korallen *Palythoa* sp., *Nephthea* sp., *Litophyton arboreum*, *Sarcophyton trocheliophorum*, *Sarcophyton glaucum*, *Sinularia polydactyla* und *Sarcophyton* sp. und der Alge *Enteromorpha flexuosa* ist bekannt, dass sie pharmakologisch aktive Sesquiterpene und Diterpene enthalten.

An Land lebende Pflanzen produzieren viele Naturstoffe mit häufig wichtigen biologischen Eigenschaften, Funktionen und Wirkungen. *Zizyphus spina-christi* und *Solenostemma argel* werden bis heute als Heilpflanzen in der traditionellen Medizin wie z. B. bei der Behandlung von Entzündungen, Leber- und Nierenerkrankungen und Hautproblemen eingesetzt, wobei die pharmakologischen Aktivitäten vor allem auf Triterpensaponine und Flavonglycoside zurückzuführen sind.

Daher bestand das Ziel dieser Arbeit in der Isolierung und Strukturbestimmung bioaktiver Naturstoffe aus marinen Organismen und Heilpflanzen. Die Testung auf pharmakologische Wirksamkeit erfolgte am Hans-Knöll-Institut in Jena.

Das unterschiedliche Verhalten jeder Stoffklasse und die Komplexität der Substanzgemische erforderten individuelle Lösungen der Trennprobleme, indem jeweils spezielle Aufarbeitungsoperationen entwickelt wurden. Zur Isolierung der Naturstoffe fanden Säulenchromatografie an Kieselgel und Sephadex LH-20, MPLC

und präparative Dünnschichtchromatografie an RP- und Kieselgel-Phasen Anwendung. Die Strukturbestimmung der isolierten Verbindungen erfolgte überwiegend mittels Kernspinresonanzspektroskopie. Die Zuordnung der Signale wurde mithilfe der zweidimensionalen homonuklearen NMR-Technik $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY und den heteronuklearen Experimenten HMQC und HMBC ermittelt. Die relative Konfiguration wurde durch die Auswertung von ROESY-Spektren festgelegt. Die Analyse der Steroidgemische erfolgte nach Trimethylsilylierung mittels GC-MS-Messungen.

Aus den Heilpflanzen *Zizyphus spina-christi* und *Solenostemma argel* konnten Triterpensaponin **1** und Pregnan-Derivat **4** isoliert werden.

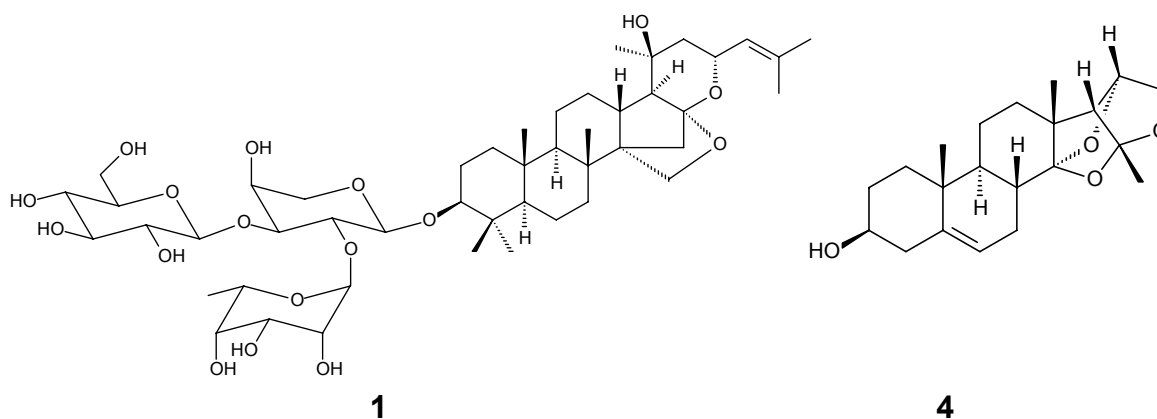


Abb. 83: Triterpensaponin **1** aus *Zizyphus spina-christi* und Pregnan-Derivat **4** aus *Solenostemma argel*

Die Koralle *Sarcophyton trocheliophorum* lieferte das Cembran-Diterpen (–)-7 β -Hydroxy-8 α -methoxydeepoxysarcophin (**16**), das aus der Natur zum ersten Mal isoliert werden konnte. Die Koralle *Sinularia polydactyla* beinhaltete die zwei neuen Cembranoide (+)-Polydactylid (**19**) und (+)-7 $\alpha,8\beta$ -Dihydroxydeepoxysarcophin (**20**), wobei letzteres durch präparative Fermentation von (+)-Sarcophin mit *Absidia glauca* bekannt ist. Aus der bereits intensiv untersuchten Koralle *Sarcophyton* sp. gelang die Isolierung von zwei neuen Cembran-Diterpenen (+)-17-Hydroxysarcophytoxid (**23**) und (+)-7 β -Acetoxy-8 α -hydroxydeepoxysarcophin (**24**), das durch Umsetzung von Sarcophin mit 1%iger p-Toluolsulfonsäure in Essigsäure partialsynthetisch bereits hergestellt wurde.

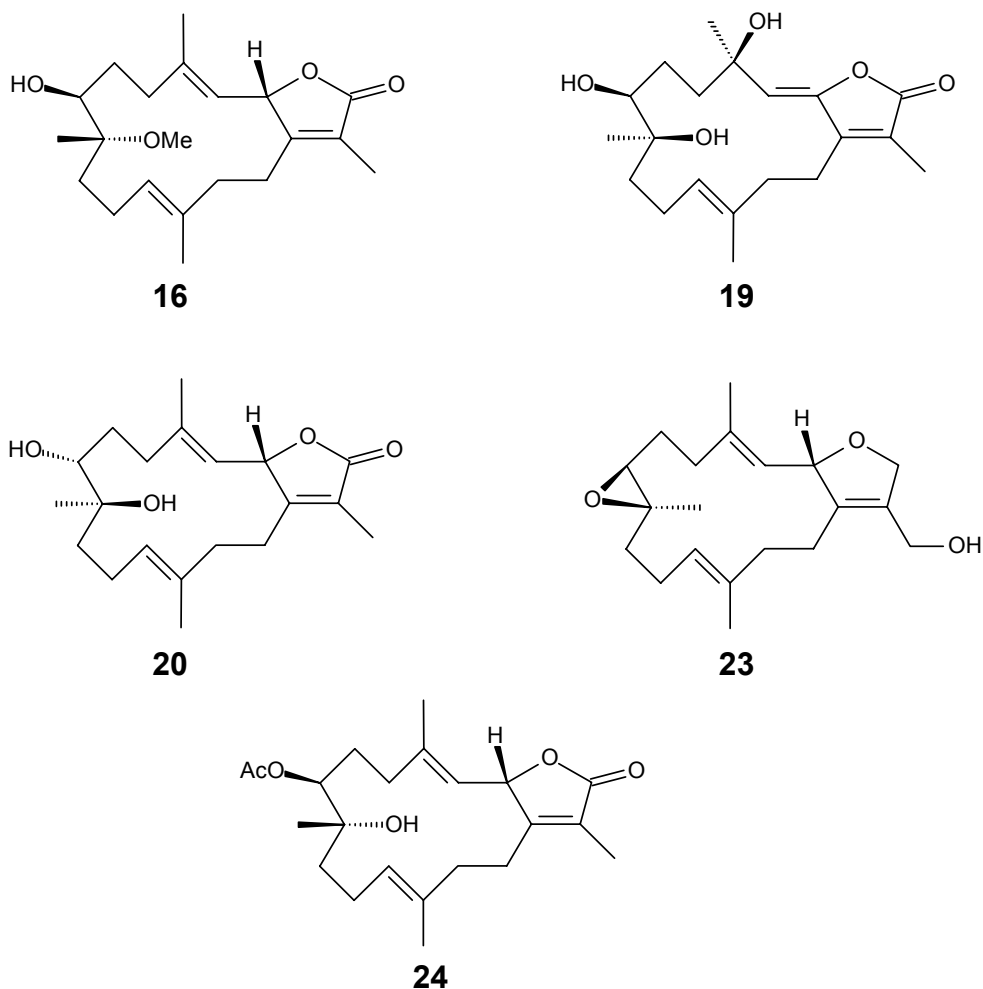


Abb. 84: Die neuen Cembranoide **16** aus *Sarcophyton trocheliophorum*, **19-20** aus *Sinularia polydactyla* und **23-24** aus *Sarcophyton* sp.

Die Koralle *Sinularia asterolobata* lieferte das neue Furanocembranoid (–)-Danielid (**29**).

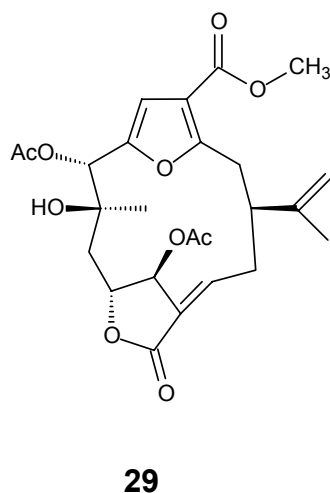


Abb. 85: (–)-Danielid (**29**) aus *Sinularia asterolobata*

Es gelang in dieser Arbeit aus *Dendronephthya rubeola* vier neue Capnellene **34-37** und ein neues Präcapnellene **38** zu isolieren.

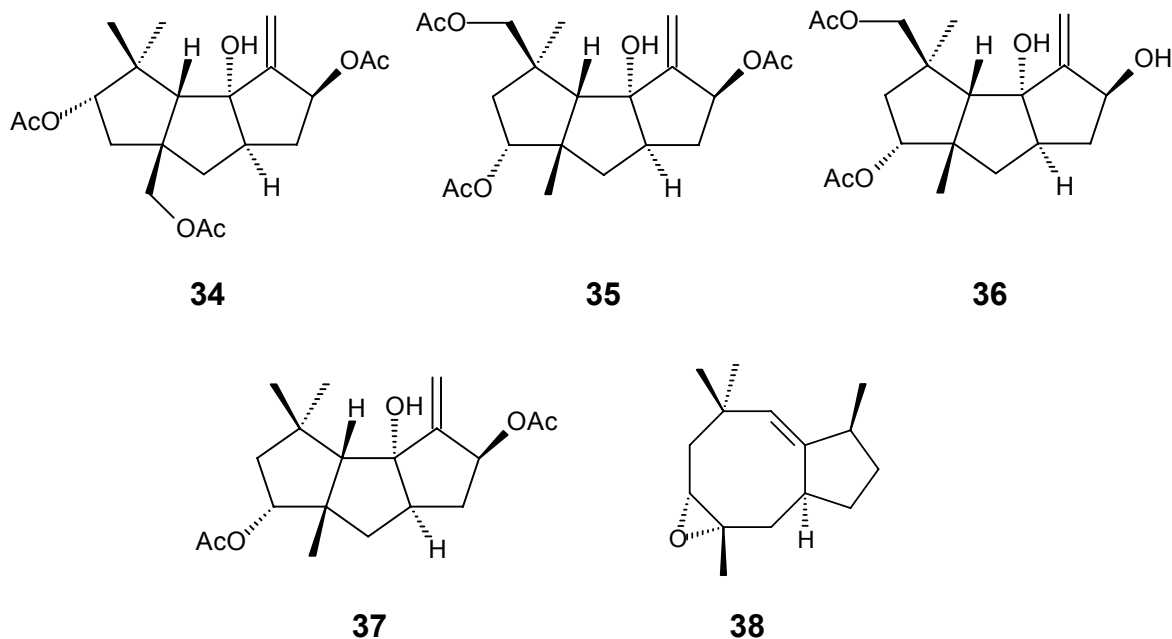


Abb. 86: Die neuen Sesquiterpene **34-38** aus *Dendronephthya rubeola*

Eine Auswahl der isolierten Naturstoffe wurde auf pharmakologische Wirkungen untersucht.

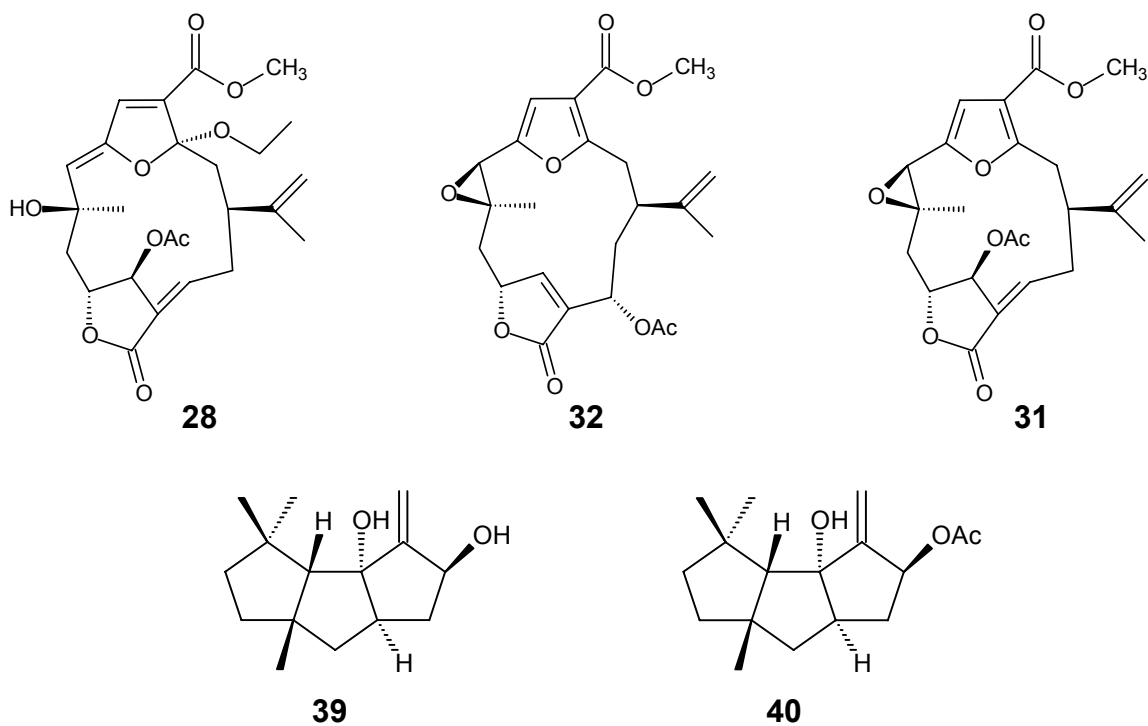


Abb. 87: Pharmakologisch aktive Furanocembranoide und Capnellene

(-)-3 α -Ethoxyfuranocembranoid **28**, (+)-13 α -Acetoxypukalid (**31**) und Furano-cembranoid **32** zeigen gute antiproliferative Aktivität gegenüber den Tumorzelllinien L-929 (Mäusefibroblasten) und K-562 (Humanleukämie). Die beiden Capnellene (+)- $\Delta^{9(12)}$ -Capnellen-8 β ,10 α -diol (**39**) und (-)-8 β -Acetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (**40**) weisen eine gute antiproliferative Wirkung gegenüber Tumorzelllinie L-929 und eine gute cytotoxische Aktivität gegenüber der HeLa-Zelllinie (humanes Cervix Karzinom) auf. Des Weiteren wurden **39** und **40** in Hefe Transkriptions-Assays getestet. Die Sesquiterpene **39** und **40** sind gute Inhibitoren der Protein-Protein-Interaktion des onkogenen c-Myc-Transkriptionsfaktors mit seinem Partnerprotein Max, wobei **39** das beste Ergebnis mit einer 77% Hemmung aufweist.

Verbindungen mit inhibitorischer Wirkung gegen den Myc/Max-Komplex sind in der Onkologie von therapeutischem Interesse, da dieser Komplex als potenter Aktivator eine Reihe von Genen reguliert, deren Genprodukte Einfluss auf die Zelltransformation zur Folge haben.

6 Summary

In the oceans covering 70% of the earth's surface, live more than 500.000 species of marine organisms. Life under water differs significantly from life on land. Marine animals and plants live in a closed ecological system with high content of salt, high pressure and relatively constant temperature. Thus it can be expected that marine organisms produce substances with different structures than those from continental organisms. Therefore marine corals, sponges and algae represent a rich source for new natural products with highly pharmacological potential. Some of the marine natural products are sesquiterpenes, diterpenes and steroids with cytotoxic, ichthyotoxic, antibacterial, anti-inflammatory, antiviral, insecticidal and immunomodulating properties. The determination of the structures and bioactivities of these compounds is the basis for their potential use as pharmaceutical drugs.

The corals *Dendronephthya rubeola*, *Sinularia asterolobata* and *Sarcophyton tenuispiculatum* as well as the sponge *Desmacidon tubular* have never been analysed for natural products before. It is known that the corals *Palythoa* sp., *Nephthea* sp., *Litophyton arboreum*, *Sarcophyton trocheliophorum*, *Sarcophyton glaucum*, *Sinularia polydactyla* and *Sarcophyton* sp. and the alga *Enteromorpha flexuosa* contain pharmacological active sesquiterpenes and diterpenes.

Continental plants produce also many natural products which have often mainly biological properties, functions and activities. The medicinal plants *Zizyphus spina-christi* and *Solenostemma argel* have been used in the traditional folk medicine e. g. in the treatment of inflammation, liver and kidney diseases and skin problems. Triterpene saponins and flavonoids are mainly responsible for the pharmacological activities.

For that reason the aim of the present thesis was the isolation and structure determination of biological active natural products from marine organisms and medicinal plants. The screening for pharmacological properties was done at the Hans-Knöll-Institute in Jena.

From the fact that each class of compounds behaves different and that the crude extracts contained a complex mixture of substances, it was necessary to establish individual work-up schemes. Column chromatography on silica gel and Sephadex LH-20, MPLC and preparative thin-layer chromatography on reversed and normal phases were used for isolation of the natural products. The structures of the obtained

compounds were primarily determined by NMR spectroscopy. The assignment of the signals was performed by means of the two-dimensional homonuclear NMR-technique $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY and the heteronuclear experiments HMQC and HMBC. The relative configuration was deduced by ROESY experiments. The steroid mixtures were analysed after trimethylsilylation by GC-MS measurements.

Triterpene saponin **1** and pregnane-derivative **4** have been isolated from the medicinal plants *Zizyphus spina-christi* and *Solenostemma argel*.

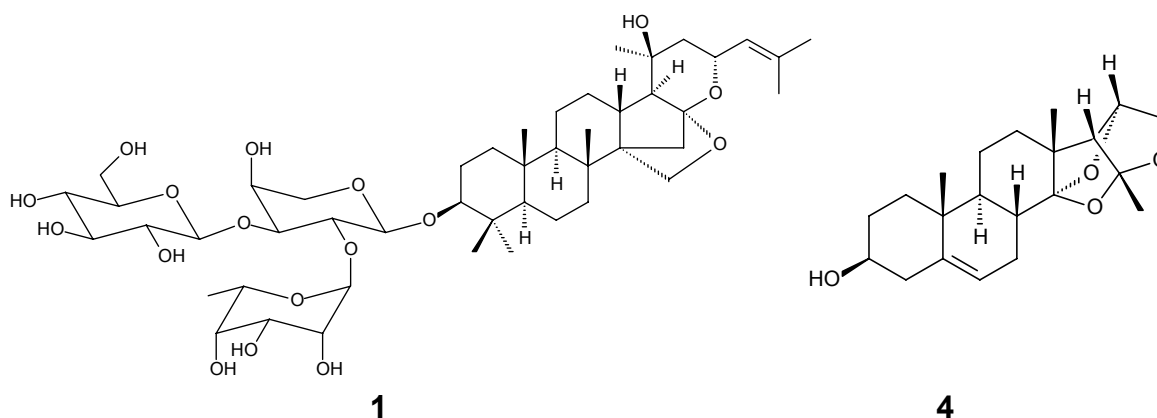


Fig. 83: Triterpene saponin **1** from *Zizyphus spina-christi* and pregnane-derivative **4** from *Solenostemma argel*

The coral *Sarcophyton trocheliophorum* gave the cembrane-diterpene (–)-7 β -hydroxy-8 α -methoxydeepoxysarcophine (**16**), which has been isolated for the first time from a natural source. The coral *Sinularia polydactyla* contained the two new cembranoids (+)-polydactylide (**19**) and (+)-7 α ,8 β -dihydroxydeepoxysarcophine (**20**). Compound **20** is already known by preparative fermentation of (+)-sarcophine with *Absidia glauca*. The two new cembrane-diterpenes (+)-17-hydroxysarcophytoxide (**23**) and (+)-7 β -acetoxy-8 α -hydroxydeepoxysarcophine (**24**) could be obtained from the intensively investigated coral *Sarcophyton* sp.. Cembranoid **24** is known as a partial synthetic product from the conversion of sarcophine with p-toluenesulfonic acid in acetic acid.

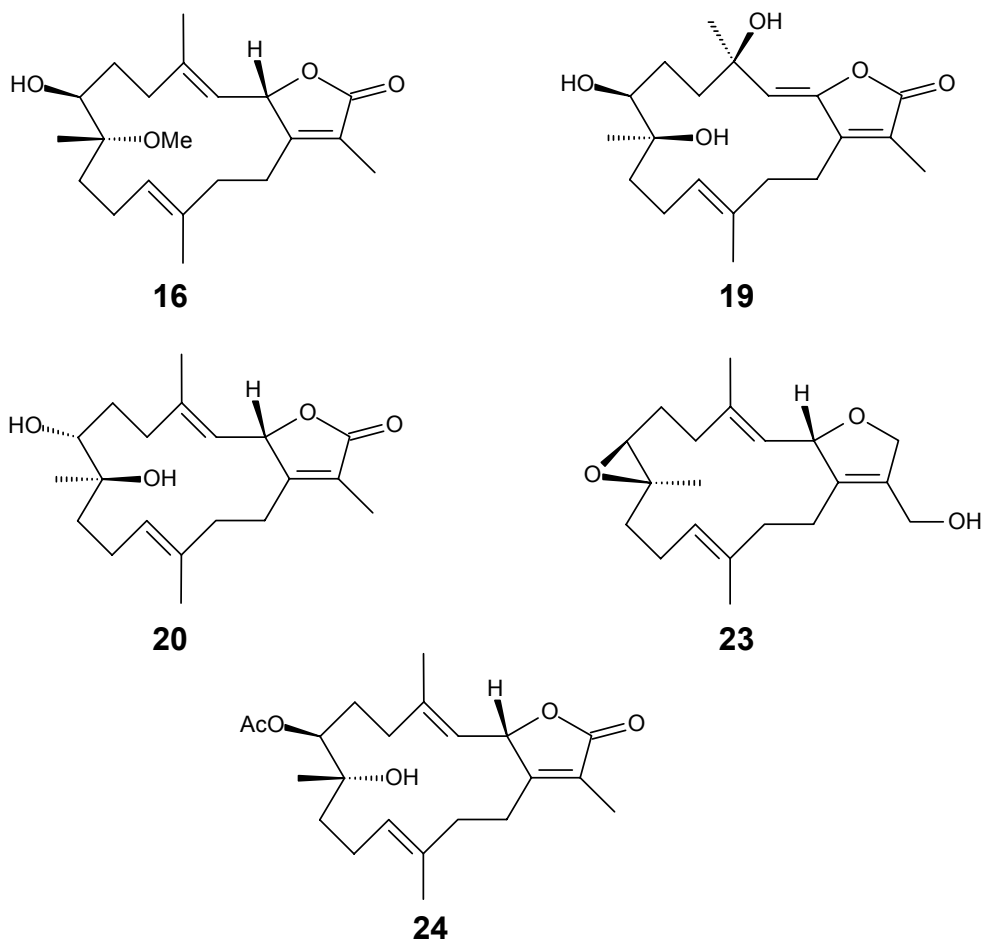


Fig. 84: The new cembranoids **16** from *Sarcophyton trocheliophorum*, **19-20** from *Sinularia polydactyla* and **23-24** from *Sarcophyton* sp.

The new furanocembranoid (–)-danielide (**29**) has been obtained from the coral *Sinularia asterolobata*.

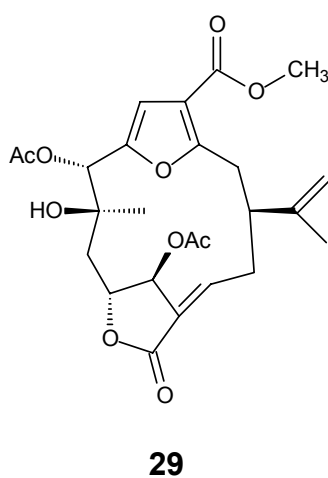


Fig. 85: (–)-Danielide (**29**) from *Sinularia asterolobata*

In this thesis it was possible to isolate four new capnellenes **34-37** and one new precapnellene **38** from the coral *Dendronephthya rubeola*.

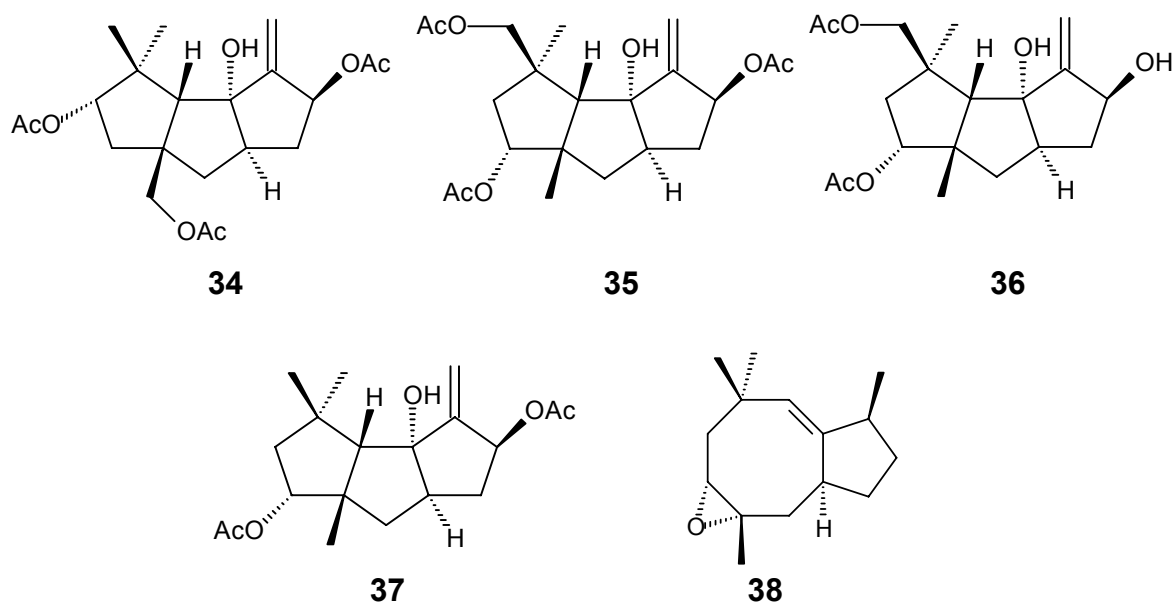


Fig. 86: The new sesquiterpenes **34-38** from *Dendronephthya rubeola*

Some of the isolated natural compounds have been screened for their pharmacological activities.

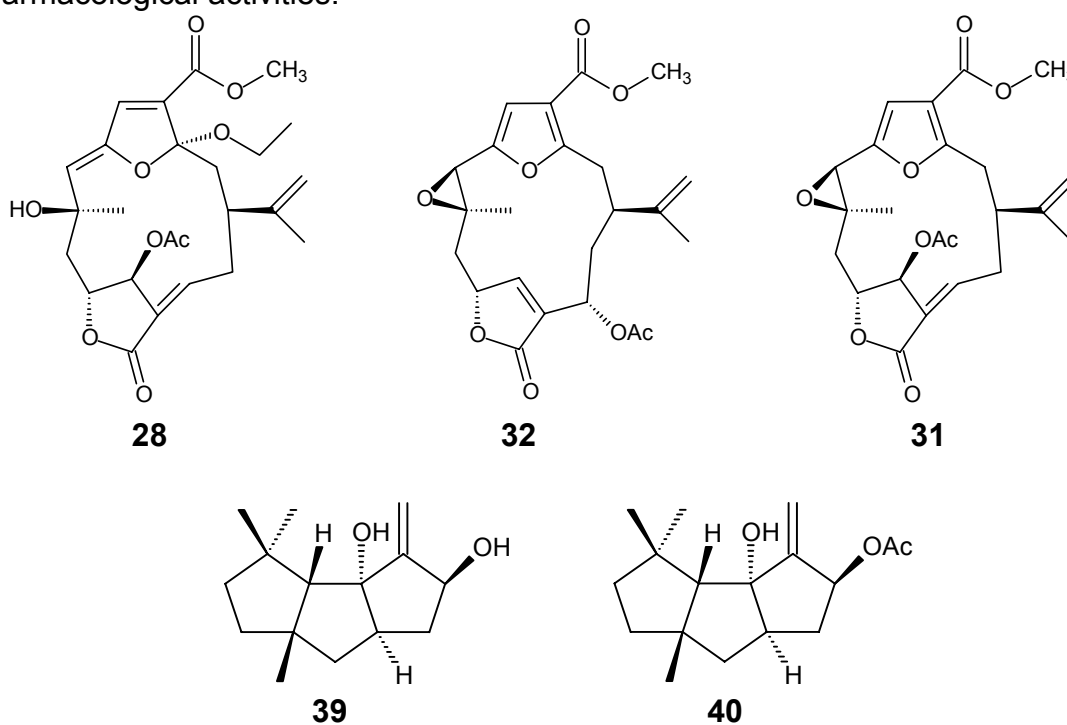


Fig. 87: Pharmacologically active furanocembranoides and capnellenes

(–)-3 α -Ethoxyfuranocembranoid **28**, (+)-13 α -acetoxypukalid (**31**) and furanocembranoid **32** show a good antiproliferative activity against the tumor cell lines L-929 (murine fibroblasts) and K-562 (human leukemia). The two capnellenes (+)- $\Delta^{9(12)}$ -capnellene-8 β ,10 α -diol (**39**) and (–)-8 β -acetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellene-10 α -ol (**40**) have a good antiproliferative effect against the tumor cell line L-929 and a good cytotoxic activity against HeLa cell line (human cervix carcinoma). Further more **39** and **40** were screened in yeast transcriptions assays. The sesquiterpenes **39** and **40** are good inhibitors of the protein protein interaction of the oncogenic transcriptional factor c-Myc and its binding protein Max. Sesquiterpene **39** shows the best result with an inhibition of 77%.

As potent activator this complex regulates several genes whose products have influence on the transformation of cells. From this reason compounds with inhibiting activity of the Myc/Max complex are of interest in oncology.

7 Anhang

7.1 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Biosynthese von Kämpferol [17-18]	5
Abb. 2: Struktur von Quercetin, Kämpferol und Isorhamnetin	6
Abb. 3: Das C ₂₁ -Kohlenstoff-Gerüst des 5 α -Pregnans [26]	6
Abb. 4: Struktur des cytotoxischen Pregnans 11 α -O-2-Methylbutyryl-12 β -O-benzoyltenacigenin B [30]	7
Abb. 5: Biogenese von Dammarenol und β -Amyrin [33]	8
Abb. 6: Struktur von Saikosaponin D [231]	9
Abb. 7: Korallenriff mit Weichkorallen [232]	11
Abb. 8: Schematischer Querschnitt eines Polypen (Anthozoa), Bp: Basalplatte, Te: Tentakel, Sr: Schlundrohr [233]	11
Abb. 9: Verschiedene Typen von Nesselkapseln, jeweils geschlossen (mit Auslöse-Flagellum) und entladen [234]	12
Abb. 10: Links: Ein Ausschnitt aus einer lebenden Tentakel der Pilzkoralle <i>Cycloneris cyclolites</i> , in dem man die zwei Zellschichten Ektoderm (oben) und Entoderm (unten) erkennt. Nur das Entoderm enthält Zooxanthellen, Verg. 300 X; Rechts: Einzelne Zooxanthellen als geißellose Kugeln. Durchmesser einer Zelle: 10 μ m [171]	13
Abb. 11: Vereinfachtes Schema des Calcifikations- und Atmungsstoffwechsels von Korallen bei Licht unter Berücksichtigung der Rolle symbiotischer Algen [49].	13
Abb. 12: Junge Weichkorallenkolonie mit ersten wenigen Polypen	14
Abb. 13: Sarcotolacetat, das ichthyotoxisch gegen <i>Oryzias latipes</i> wirkt	15
Abb. 14: Bauplan eines Schwammes [105]	16
Abb. 15: Gewebeausschnitt von vier Geißelkammern. Die Lücken zwischen den Kragengeißelzellen entsprechen Kammerporen, über die zuführende Kanäle in die Kammern einmünden. Der Kragen der Choanocyten besteht aus einzelnen Mikrovilli [105]	16
Abb. 16: Gonan ist das Grundgerüst der Steroide	17

Abb. 17: Biosynthese von Cholesterol über Cycloartenol (bei Pflanzen) und Lanosterol (bei Tieren) [67]	19
Abb. 18: Biosynthese von Gorgosterol	20
Abb. 19: Strukturen der marinen Sterole 24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 β ,7 β ,19-triol, Litosterol und Ibisterolsulfat	21
Abb. 20: Charakteristische Fragmentierung von Sterolen: Bruchstücke [M-15] ⁺ , [M-90] ⁺ und [M-90-15] ⁺ [75]	22
Abb. 21: Charakteristische Fragmentierung des A-Rings von Sterolen: Bruchstücke m/z 129, [M-129] ⁺ [76]	23
Abb. 22: Charakteristische Fragmentierung des D-Rings von Sterolen: Bruchstück m/z 213 [77]	23
Abb. 23: Charakteristische Fragmentierung der Seitenkette von Gorgosterol: Bruchstück m/z 386	24
Abb. 24: Biogenese einiger mono- und bicyclischer Sesquiterpene aus Farnesylpyrophosphat [85]	25
Abb. 25: (1'E,5'Z)-2-(2',6'-Dimethylocta-1',5',7'-trienyl)-4-furancarbonsäure aus <i>Sinularia</i> Spezies	26
Abb. 26: Struktur von Capnellen-8 β -ol, 11,12-Dihydroxy-1(10),6-eremophiladien und 4 α -O-Acetyl-11-eudesmen [90-92]	26
Abb. 27: Hydroxycolosenenon aus <i>Nephthea chabrolii</i>	27
Abb. 28: Pseudopterosin E aus der Hornkoralle <i>Pseudopterogorgia elisabethae</i>	28
Abb. 29: Praelolid aus <i>Gorgonella umbraculum</i>	29
Abb. 30: Cytotoxisch wirkende Diterpene aus Korallen	30
Abb. 31: Biosynthese von Cembren A aus Geranylgeranylpyrophosphat [85]	31
Abb. 32: Bestimmung der Reihenzugehörigkeit von Monosacchariden am Beispiel der β -D-Glycopyranose	35
Abb. 33: Aufarbeitungsschema von <i>Zizyphus spina-christi</i>	38
Abb. 34: Synthese von 6-Deoxy-L-talose aus L-Rhamnose	43
Abb. 35: Strukturen der aus <i>Zizyphus spina-christi</i> isolierten Saponine 1 und 2	44
Abb. 36: Struktur des aus <i>Zizyphus spina-christi</i> isolierten Kämpferol 3-O-robinobiosids (3)	47

Abb. 37: Struktur des aus <i>Solenostemma argel</i> isolierten Pregnan-Derivates 4	50
Abb. 38: Struktur des aus <i>Solenostemma argel</i> isolierten Stemmossids A (5)	52
Abb. 39: Aufarbeitungsschema von <i>Enteromorpha flexuosa</i>	55
Abb. 40: Struktur des aus <i>Enteromorpha flexuosa</i> isolierten β -Sitosterols (6)	55
Abb. 41: Struktur des aus <i>Enteromorpha flexuosa</i> isolierten 7-Oxocholesterols (7)	57
Abb. 42: Aufarbeitungsschema von <i>Desmacidon tubular</i>	58
Abb. 43: Strukturen der aus <i>Desmacidon tubular</i> isolierten Sterole	59
Abb. 44: <i>Palythoa</i> sp. mit geschlossen und im Wasser offenen Mundscheiben	61
Abb. 45: Aufarbeitungsschema von <i>Palythoa</i> sp.	62
Abb. 46: Strukturen des aus <i>Palythoa</i> sp. isolierten 24 ξ -Methylcholesterols (9) und 7 α -Hydroxy-24 ξ -methylcholesterols (10)	63
Abb. 47: Ein Ausschnitt aus dem „Hutabschnitt“ von <i>Sarcophyton glaucum</i> (Rotes Meer). Die einzelnen Polypen sind – typisch für Oktokorallen – mit acht gefiederten Tentakeln ausgestattet [171]	64
Abb. 48: Aufarbeitungsschema von <i>Sarcophyton tenuispiculatum</i>	66
Abb. 49: Struktur des aus <i>Sarcophyton tenuispiculatum</i> isolierten Gorgosterols (11)	67
Abb. 50: Aufarbeitungsschema von <i>Nephthea</i> sp.	68
Abb. 51: Struktur des aus <i>Nephthea</i> sp. isolierten (–)-Nephtenols (12)	70
Abb. 52: Struktur des aus <i>Nephthea</i> sp. isolierten 24-Methylencholesterols (13)	71
Abb. 53: Struktur der aus <i>Nephthea</i> sp. isolierten Ölsäure	72
Abb. 54: Aufarbeitungsschema von <i>Litophyton arboreum</i>	73
Abb. 55: Struktur des aus <i>Litophyton arboreum</i> isolierten (–)-11 β ,12 β -Epoxykalids (14)	75
Abb. 56: Struktur des aus <i>Litophyton arboreum</i> isolierten (–)-Bicyclogermacrens (15)	76
Abb. 57: Aufarbeitungsschema von <i>Sarcophyton trocheliophorum</i>	78
Abb. 58: Struktur des aus <i>Sarcophyton trocheliophorum</i> isolierten (–)-7 β -Hydroxy-8 α -methoxydeepoxysarcophins (16)	80
Abb. 59: Strukturen einiger aus <i>Sarcophyton trocheliophorum</i> isolierten Steroide	81

Abb. 60: Aufarbeitungsschema von <i>Sarcophyton glaucum</i>	83
Abb. 61: Strukturen der aus <i>Sarcophyton glaucum</i> isolierten Cembranoide 17 und 18	84
Abb. 62: <i>Sinularia polydactyla</i> mit eingezogenen Polypen (links) und ausgestreckten Polypen (rechts)	86
Abb. 63: Aufarbeitungsschema von <i>Sinularia polydactyla</i>	87
Abb. 64: Strukturen der aus <i>Sinularia polydactyla</i> isolierten Cembranoide 19-22	91
Abb. 65: Aufarbeitungsschema von <i>Sarcophyton</i> sp.	94
Abb. 66: Strukturen der aus <i>Sarcophyton</i> sp. isolierten Cembranoide 23-25	96
Abb. 67: Struktur des aus <i>Sarcophyton</i> sp. isolierten Sarcophytonins A (26)	98
Abb. 68: Struktur des aus <i>Sarcophyton</i> sp. isolierten (–)- β -Elemens (27)	99
Abb. 69: Aufarbeitungsschema von <i>Sinularia asterolobata</i>	101
Abb. 70: Festsitzender Krebs auf Krabbenpanzer	104
Abb. 71: Strukturen der aus <i>Sinularia asterolobata</i> isolierten Furanocembranoide 28-30	105
Abb. 72: Strukturen der aus <i>Sinularia asterolobata</i> isolierten Furanocembranoide 31-32	107
Abb. 73: Struktur des aus <i>Sinularia asterolobata</i> isolierten Furanosesquiterpens 33	109
Abb. 74: Nachtaufnahme einer <i>Dendronephthya</i> sp. [235] (links); Zu untersuchende zusammengerollte <i>Dendronephthya rubeola</i> am Tag (rechts)	111
Abb. 75: Aufarbeitungsschema von <i>Dendronephthya rubeola</i>	112
Abb. 76: Struktur des aus <i>Dendronephthya rubeola</i> isolierten (–)-2 α ,8 β ,13-Triacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ols (34)	114
Abb. 77: Struktur des aus <i>Dendronephthya rubeola</i> isolierten (+)-3 α ,8 β ,14-Triacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ols (35)	116
Abb. 78: Struktur des aus <i>Dendronephthya rubeola</i> isolierten (+)-3 α ,14-Diacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-8 β ,10 α -diols (36)	118
Abb. 79: Struktur des aus <i>Dendronephthya rubeola</i> isolierten (+)-3 α ,8 β -Diacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ols (37)	121

Abb. 80: Struktur des aus <i>Dendronephthya rubeola</i> isolierten (+)-3 α ,4 α -Epoxy- Δ^{10} -präcapnellens (38)	123
Abb. 81: Strukturen der aus <i>Dendronephthya rubeola</i> isolierten Capnellene 39-40	124
Abb. 82: Strukturen der pharmakologisch getesteten Verbindungen	127
Abb. 83: Triterpensaponin 1 aus <i>Zizyphus spina-christi</i> und Pregnan-Derivat 4 aus <i>Solenostemma argel</i>	153
Abb. 84: Die neuen Cembranoide 16 aus <i>Sarcophyton trocheliophorum</i> , 19-20 aus <i>Sinularia polydactyla</i> und 23-24 aus <i>Sarcophyton</i> sp.	154
Abb. 85: (–)-Danielid (29) aus <i>Sinularia asterolobata</i>	154
Abb. 86: Die neuen Sesquiterpene 34-38 aus <i>Dendronephthya rubeola</i>	155
Abb. 87: Pharmakologisch aktive Furanocembranoide und Capnellene	155
Fig. 83: Triterpene saponin 1 from <i>Zizyphus spina-christi</i> and pregnane-derivative 4 from <i>Solenostemma argel</i>	158
Fig. 84: The new cembranoids 16 from <i>Sarcophyton trocheliophorum</i> , 19-20 from <i>Sinularia polydactyla</i> and 23-24 from <i>Sarcophyton</i> sp.	159
Fig. 85: (–)-Danielide (29) from <i>Sinularia asterolobata</i>	159
Fig. 86: The new sesquiterpenes 34-38 from <i>Dendronephthya rubeola</i>	160
Fig. 87: Pharmacologically active furanocembranoides and capnellenes	160

7.2 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Cytotoxizität der Diterpene A-E aus Korallen [106-110]	30
Tab. 2: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Aglycone der Saponine 1 und 2 in CD_3OD	45
Tab. 3: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Trisaccharide der Saponine 1 und 2 in CD_3OD	46
Tab. 4: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von Kämpferol 3-O-robinobiosid (3) in CD_3OD	48
Tab. 5: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (14 <i>S</i> ,16 <i>S</i> ,20 <i>R</i>)-14,16-14,20-15,20-Triepoxy-14,15-secopregn-5-en-3 β -ol (4) in CDCl_3	51
Tab. 6: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von Stemmosid A (5) in CD_3OD	52
Tab. 7: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von β -Sitosterol (6) in CDCl_3	56

Tab. 8: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von 24 ξ -Methylcholesterol (9) und 7 α -Hydroxy-24 ξ -methylcholesterol (10) in CDCl_3	64
Tab. 9: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (–)-Nephtenol (12) in CDCl_3	70
Tab. 10: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von 24-Methylencholesterol (13) in CDCl_3	71
Tab. 11: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (–)-11 β ,12 β -Epoxyypukalid (14) in CDCl_3	75
Tab. 12: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (–)-Bicyclogermacren (15) in CDCl_3	76
Tab. 13: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von von (–)-7 β -Hydroxy-8 α -methoxydeepoxy-sarcophin (16) in CDCl_3	80
Tab. 14: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (+)-7 β -Hydroxy-8 α -methoxydeepoxy-sarcophytoxid (17) und (+)-7 α ,8 β -Dihydroxydeepoxysarcophytoxid (18) in CDCl_3	85
Tab. 15: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (+)-Polydactylid (19) in CDCl_3 und DMSO-D_6	92
Tab. 16: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (+)-7 α ,8 β -Dihydroxydeepoxysarcophin (20), (+)-Sarcophin (21) und (+)-Sarcophytoxid (22) in CDCl_3	92
Tab. 17: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (+)-17-Hydroxysarcophytoxid (23), (+)-7 β -Acetoxy-8 α -hydroxydeepoxysarcophin (24) und (+)-7 β ,8 α -Dihydroxydeepoxysarcophin (25) in CDCl_3	97
Tab. 18: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von Sarcophytonin A (26) in CDCl_3	98
Tab. 19: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (–)- β -Elemen (27) in CDCl_3	100
Tab. 20: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (–)-3 α -Ethoxyfurancembranoid (28), (–)-Danielid (29) und (+)-Pukalid (30) in DMSO-D_6 und CDCl_3 ; ^{a)} Zuordnungen austauschbar	106
Tab. 21: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (+)-13 α -Acetoxypukalid (31) und Furanocembranoid 32 in CDCl_3 ; ^{a)} Zuordnung austauschbar	108
Tab. 22: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von Furanosesquiterpen 33 in CDCl_3	110
Tab. 23: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (–)-2 α ,8 β ,13-Triacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (34) in DMSO-D_6 und CDCl_3 ; ^{a), b), c), d), e), f)} Zuordnungen austauschbar	115
Tab. 24: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (+)-3 α ,8 β ,14-Triacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (35) in DMSO-D_6 und CDCl_3 ; ^{a), b), c), d)} Zuordnungen austauschbar	117
Tab. 25: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (+)-3 α ,14-Diacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-8 β ,10 α -diol (36) in DMSO-D_6 und CDCl_3	119

Tab. 26: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (+)-3 α ,8 β -Diacetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (37) in DMSO- D_6 und CDCl_3	121
Tab. 27: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (+)-3 α ,4 α -Epoxy- Δ^{10} -präcapnellen (38) in CDCl_3	123
Tab. 28: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von (+)- $\Delta^{9(12)}$ -Capnellen-8 β ,10 α -diol (39) und (–)-8 β -Acetoxy- $\Delta^{9(12)}$ -capnellen-10 α -ol (40) in CDCl_3 und DMSO- D_6	125
Tab. 29: Antiproliferative Aktivität (GI_{50}) und Cytotoxizität (CC_{50}) von 4 , 14-15 , 23-24 , 28 , 30-32 , 34-40 gegenüber den Tumorzelllinien L-929 (Mäusefibroblasten), K562 (Humanleukämie) und HeLa (humanes Cervix Karzinom); Aktivitätskategorie: 3 = sehr gute Aktivität; 2 = gute Aktivität; 1 = geringe Aktivität	129
Tab.30: Hemmung der TAX/CREB- (%), der Myc/Max- (%) und der Myc/Miz-1-Interaktion (%) von 24 , 28 , 35 , 37 , 39-40 ; Aktivitätskategorie: 3 = sehr gute Aktivität; 2 = gute Aktivität; 1 = geringe Aktivität	131
Tab. 31: Bestimmung der Reihenzugehörigkeit der Trimethylsilylderivate der (<i>R</i>)-2-Butylglycoside	137
Tab. 32: Bedingungen zum Abspalten der Methyl-Schutzgruppe	139

8 Literaturverzeichnis

- [1] A. Chevallier, *Die BLV-Enzyklopädie der Heilpflanzen*, BLV Verlagsgesellschaft mbH München, **2000**, 16-18.
- [2] S. Schöning, *Deutsches Ärzteblatt, VARIA: Feuilleton*, Jg. 99, Heft 50, 13.12.2002, Seite A-3424.
- [3] J. Fleurentin, J.-M. Pelt, *Journal of Ethnopharmacology* **1982**, 6, 85-108.
- [4] M. Groß, *Spektrum der Wissenschaft, Dossier: Seuchen*, **1997**, 3, 108-109.
- [5] N. Kube, U. Waller, *Blaue Biotechnologie: Stand und Perspektiven der marinen Naturstoffe*, **2003**, Technologiestiftung Schleswig-Holstein, 12. Als pdf-file aus dem Internet (<http://www.i-sh.org/>).
- [6] D. G. Müller, L. Jaenicke, M. Donike, T. Akintobi, *Science* **1971**, 171, 815-817.
- [7] G. D. Ruggieri, *Science* **1976**, 194, 491-497.
- [8] J. Shin, M. Park, W. Fenical, *Tetrahedron* **1989**, 45 (6), 1633-1638.
- [9] N. Kube, U. Waller, *Blaue Biotechnologie: Stand und Perspektiven der marinen Naturstoffe*, **2003**, Technologiestiftung Schleswig-Holstein, 10. Als pdf-file aus dem Internet (<http://www.i-sh.org/>).
- [10] W. Bergmann, R. J. Feeney, *J. Org. Chem.* **1951**, 16, 981-987.
- [11] W. E. G. Müller, H. C. Schröder, *Biologie in unserer Zeit* **1997**, 27 (6), 389-398.
- [12] D. J. Newmann, G. M. Cragg, *J. Nat. Prod.* **2004**, 67(8), 1216-1238.
- [13] <http://www.janus-online.de/artikel/new-files/janus-2002.cfm?do=30&site=1&aid=207>
- [14] *Journal Swissmedic* **2006**, 4, Schweizerisches Heilmittelinstitut, 324-325. Als pdf-file aus dem Internet (http://www.swissmedic.ch/files/pdf/04_2006.pdf).
- [15] <http://www.sonntagszeitung.ch/dyn/news/print/wissen/484311.html>
- [16] G. P. Pettit, C. L. Herald, D. L. Doubek, D. L. Herald, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 6846-6849.
- [17] H. R. Schütte, *Biosynthese niedermolekularer Naturstoffe*, Gustav Fischer Verlag Jena, **1982**, 100-106.
- [18] G. Habermehl, P. E. Hammann, H. C. Krebs, *Naturstoffchemie*, Springer Verlag Berlin, **2002**, 453-455.

- [19] V. Cody, E. Middleton Jr., J. B. Harborne, *Plant Flavonoids in Biology and Medicine*, Alan R. Liss Inc. New York, **1986**, 471-480.
- [20] D. L. Evers, C.-F. Chao, X. Wang, Z. Zhang, S.-M. Huong, E.-S. Huang, *Antiviral Research* **2005**, 68, 124-134.
- [21] N. Bai, Z. Zhou, N. Zhu, L. Zhang, Z. Quan, K. He, Q. Y. Zheng, C.-T. Ho, *Journal of Food Lipids* **2005**, 12, 141-149.
- [22] G. Innocenti, S. Dall'Acqua, S. Sosa, G. Altinier, R. Della Loggia, *Journal of Ethnopharmacology* **2005**, 102, 307-310.
- [23] G. Habermehl, P. E. Hammann, H. C. Krebs, *Naturstoffchemie*, Springer Verlag Berlin, **2002**, 456.
- [24] T. K. H. Chang, J. Chen, E. Y. H. Yeung, *Toxicology and Applied Pharmacology* **2006**, 213, 18-26.
- [25] S.-L. Huang, C.-L. Hsu, G.-C. Yen, *Life Sciences* **2006**, 79, 203-209.
- [26] W. Steglich, B. Fugmann, S. Lang-Fugmann, *Römpf-Lexikon Naturstoffe*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1997**, 513.
- [27] W. Steglich, B. Fugmann, S. Lang-Fugmann, *Römpf-Lexikon Naturstoffe*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1997**, 257.
- [28] W. Steglich, B. Fugmann, S. Lang-Fugmann, *Römpf-Lexikon Naturstoffe*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1997**, 16.
- [29] H. Beyer, W. Walter, *Lehrbuch der organischen Chemie*, 20. Aufl., S. Hirzel Verlag Stuttgart, **1984**, 658-660.
- [30] S.-Q. Luo, L.-Z. Lin, G. A. Cordell, L. Xue, M. E. Johnson, *Phytochemistry* **1993**, 34 (6), 1615-1620.
- [31] L. L. Rogers, L. Zeng, J. L. McLaughlin, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 3781-3785.
- [32] G. Cioffi, R. Sanogo, A. Vassallo, F. Dal Piaz, G. Autore, S. Marzocco, N. De Rommasi, *J. Nat. Prod.* **2006**, 69, 625-635.
- [33] K. Hostettmann, A. Marston, *Chemistry and Pharmacology Natural Products – Saponins*, Cambridge University Press Cambridge, **1995**, 1-77.
- [34] H. R. Schütte, *Biosynthese niedermolekularer Naturstoffe*, Gustav Fischer Verlag Jena, **1982**, 70-71.
- [35] G. Reznicek, J. Jurenitsch, *Pharm. in unserer Zeit* **1991**, 20 (6), 278-281.
- [36] G. Wulff, *Dtsch. Apothekerzeitung* **1968**, 108, 797-808.
- [37] P. Schauenberg, F. Paris, *Heilpflanzen*, BLV Verlagsgesellschaft mbH München, **1970**, 175.
- [38] H. Diener, *Drogen in Übersichten*, VEB Fachbuchverlag Leipzig, **1990**, 28-30.

- [39] E. Breitmaier, *Terpene: Aromen, Düfte, Pharmaka, Pheromone*, B. G. Teubner Stuttgart, Leipzig, **1999**, 98.
- [40] A. V. Rao, K. K. Sung, *Americ. Inst. of Nutr.* **1995**, 125, 717-724.
- [41] L.-C. Chiang, L. T. Ng, L.-T. Liu, D. Shieh, C.-C. Lin, *Planta Medica* **2003**, 69 (8), 705-709.
- [42] Y.-L. Hsu, P.-L. Kuo, C.-C. Lin, *Life Sciences* **2004**, 75, 1231-1242.
- [43] K. Hostettmann, A. Marston, *Chemistry and Pharmacology Natural Products – Saponins*, Cambridge University Press Cambridge, **1995**, 232-282.
- [44] J. Campbell, Y. A. Peerbaye, *Res. Immunol.* **1992**, 143, 526-530.
- [45] I. Claasen, A. Osterhaus, *Res. Immunol.* **1992**, 143, 531-541.
- [46] J.-Y. Wu, B. H. Gardner, C. I. Murphy, J. R. Seals, C. R. Kensil, J. Recchia, G. A. Beltz, G. W. Newman, M. J. Newman, *J. Immunol.* **1992**, 148 (5), 1519-1525.
- [47] G. Bader, *Pharmazie* **1994**, 49, 391-400.
- [48] <http://www.planet-wissen.de/pw/Artikel,,,,,,,,,DD5F7C7AC0DF1504E0340003BA5E0905,,,,,,,,,,,,,html>
- [49] G. Czihak, H. Langer, H. Ziegler (Hersg.), *Biologie*, 5. Aufl., Springer-Verlag Berlin, **1992**, 805-806.
- [50] R. Wehner, W. Gehring, *Zoologie*, 22. Aufl., Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1990**, 625f.
- [51] S. A. Fosså, A. J. Nilsen, *Korallenriff-Aquarium Band 4: Nesseltiere im Korallenriff und für das Korallenriff-Aquarium*, Brigit Schmettkamp Verlag Bornheim, **1995**, 17-23.
- [52] S. A. Fosså, A. J. Nilsen, *Korallenriff-Aquarium Band 4: Nesseltiere im Korallenriff und für das Korallenriff-Aquarium*, Brigit Schmettkamp Verlag Bornheim, **1995**, 28-33.
- [53] H. Erhardt, H. A. Baensch, *Meerwasser Atlas Band 4: Wirbellose Tiere*, 1. Aufl., Mergus®-Verlag GmbH Melle, **1998**, 178.
- [54] <http://www.knop.de/d/magazin/baeumchenweichkorallen.htm>
- [55] S. A. Fosså, A. J. Nilsen, *Korallenriff-Aquarium Band 4: Nesseltiere im Korallenriff und für das Korallenriff-Aquarium*, Brigit Schmettkamp Verlag Bornheim, **1995**, 35-64.
- [56] P. Proksch, *Dtsch. Apoth. Ztg.* **1994**, 134 (51/52), 19-34.

- [57] W. E. G. Müller, H. C. Schröder, *Biologie in unserer Zeit* **1997**, 27 (6), 389-398.
- [58] T. Iwagawa, S. Nakamura, T. Masuda, H. Okamura, M. Nakatani, M. Siro, *Tetrahedron* **1995**, 51 (18), 5291-5298.
- [59] http://www.bio2.rwth-aachen.de/teaching/WS03/BO_ws03_06.htm
- [60] V. Storch, U. Welsch, *Systematische Zoologie*, 3. Aufl., Gustav Fischer Verlag Stuttgart, Jena, New York, **1986**, 13-40.
- [61] H. Erhardt, H. A. Baensch, *Meerwasser Atlas Band 4: Wirbellose Tiere*, 1. Aufl., Mergus®-Verlag GmbH Melle, **1998**, 12-16.
- [62] V. Storch, U. Welsch, *Kurzes Lehrbuch der Zoologie*, 7. Aufl., Gustav Fischer Verlag Stuttgart, Jena, New York, **1994**, 401-404.
- [63] D. Eichler, *Tropische Meerestiere*, BLV Verlagsgesellschaft mbH München, **1991**, 38.
- [64] http://www.paed-quest.de/Riff_Tiefsee_Mangroven_neu/oekoriff/content/schwamm.html
- [65] H. Beyer, W. Walter, *Lehrbuch der organischen Chemie*, 20. Aufl., S. Hirzel Verlag Stuttgart, **1984**, 649-653.
- [66] W. Steglich, B. Fugmann, S. Lang-Fugmann, *Römp- Lexikon Naturstoffe*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1997**, 613-615.
- [67] H. R. Schütte, *Biosynthese niedermolekularer Naturstoffe*, Gustav Fischer Verlag Jena, **1982**, 66-68.
- [68] H. R. Schütte, *Biosynthese niedermolekularer Naturstoffe*, Gustav Fischer Verlag Jena, **1982**, 69-70.
- [69] A. Kanazawa, S. Teshima, T. Ando, S. Tomita, *Marine Biology* **1976**, 34, 53-57.
- [70] F. Korte, M. Goto, *Steroids, Terpenes and Alkaloids*, George Thieme Verlag Stuttgart, **1978**, 2-6.
- [71] C. Subrahmanyam, R. Kulatheeswaran, R.S. Ward, *J. Nat. Prod.* **1998**, 61, 1120-1122.
- [72] C.-Y. Duh, S.-K. Wang, M.-J. Chu, J.-H. Sheu, *J. Nat. Prod.* **1998**, 61, 1022-1024.
- [73] El Sayed, K. A., Bartyzel, P., Shen, X., Perry, T. L., Zjawiony, J. K., Hamann, M. T., *Tetrahedron* **2000**, 56, 949-953.
- [74] T. C. McKee, J. H. Cardellina II, M. Tischler, K. M. Snader, M. R. Boyd, *Tetrahedron Letters* **1993**, 34 (3), 389-392.

- [75] M. König, Dissertation Univ. Bayreuth, **1997**.
- [76] A. Rahier, P. Benveniste, *Mass Spectral Identification of Phytosterols*, Academic Press. Inc, **1989**, 230-231.
- [77] J. Diekman, C. Djerassi, *J. Org. Chem.* **1967**, 32, 1005-1012.
- [78] G. Rücker, *Angew. Chem.* **1973**, 20, 895-907.
- [79] W. Wu, M. Wang, J. Zhu, W. Zhou, Z. Hu, Z. Ji, *J. Nat. Prod.* **2001**, 64, 364-367.
- [80] W. A. Ayer, L. M. Browne, *Tetrahedron* **1981**, 37, 2199-2248.
- [81] J. Jurek, P. J. Scheuer, *J. Nat. Prod.* **1993**, 56 (4), 508-513.
- [82] G. M. König, A. D. Wright, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 3837-3840.
- [83] D. Iliopoulou, V. Roussis, C. Pannecouque, E. De Clercq, C. Vagias, *Tetrahedron* **2002**, 58, 6749-6755.
- [84] D. E. Cane, *Chem. Rev.* **1990**, 90, 1089-1103.
- [85] E. Breitmaier, *Terpene: Aromen, Düfte, Pharmaka, Pheromone*, B. G. Teubner Stuttgart, Leipzig, **1999**, 12-19.
- [86] W. Steglich, B. Fugmann, S. Lang-Fugmann, *Römpf-Lexikon Naturstoffe*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1997**, 586-587.
- [87] D. H. Williams, D. J. Faulkner, *Tetrahedron* **1996**, 52 (12), 4245-4256.
- [88] K. J. S. Grace, D. Zavortink, R. S. Jacobs, *Biochem. Pharmacol.* **1994**, 47 (8), 1427-1434.
- [89] S. P. Garzón, A. D. Rodríguez, J. A. Sánchez, E. Ortega-Barria, *J. Nat. Prod.* **2005**, 68, 1354-1359.
- [90] L. A. Morris, M. Jaspars, K. Adamson, S. Woods, H. M. Wallace, *Tetrahedron*, 1988, 54, 12953-12958.
- [91] A. A. H. El-Gamal, E.-P. Chiu, C.-H. Li, S.-Y. Cheng, C.-F. Dai, C.-Y. Duh, *J. Nat. Prod.* **2005**, 68, 1749-1753.
- [92] C.-Y. Duh, S.-K. Wang, Y.-L. Weng, M. Y. Chiang, C.-F. Dai, *J. Nat. Prod.* **1999**, 62, 1518-1521.
- [93] Proksch, P., *Dtsch. Apoth. Ztg.* **1994**, 134 (51/52), 19-34.
- [94] D. Handayani, R. A. Edrada, P. Proksch, V. Wary, L. Witte, L. van Ofwegen, A. Kunzmann, *J. Nat. Prod.* **1997**, 60, 716-718.
- [95] E. Breitmaier, *Terpene: Aromen, Düfte, Pharmaka, Pheromone*, B. G. Teubner Stuttgart, Leipzig, **1999**, 60-89.

- [96] W. Steglich, B. Fugmann, S. Lang-Fugmann, *Römpp-Lexikon Naturstoffe*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1997**, 188-189.
- [97] G. Habermehl, P. E. Hammann, H. C. Krebs, *Naturstoffchemie*, Springer Verlag Berlin, **2002**, 23-29.
- [98] Roussis, V., Wu, Z., Fenical, W., *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 4916-4922.
- [99] Mayer, A. M. S., Jacobson, P. B., Fenical, W., Jacobs, R. S., Glaser, K. B., *Life Sciences* **1998**, 62 (26), 401-407.
- [100] N. Kube, U. Waller, *Blaue Biotechnologie: Stand und Perspektiven der marinen Naturstoffe*, **2003**, Technologiestiftung Schleswig-Holstein, 54. Als pdf-file aus dem Internet (<http://www.i-sh.org/>).
- [101] C. Subrahmanyam, R. Kulatheeswaran, R. S. Ward, *J. Nat. Prod.* **1998**, 61, 1120-1122.
- [102] M. A. Rashid, K. R. Gustafson, and M. R. Boyd, *J. Nat. Prod.* **2000**, 63, 531-533.
- [103] M. Ochi, K. Futatsugi, H. Kotsuki, M. Ishii, K. Shibata, *Chemistry Letters* **1987**, 11, 2207-2210.
- [104] H. Gross, S. Kehraus, M. Nett, G. M. König, W. Beil, A. D. Wright, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1, 944-949.
- [105] A. Remane, V. Storch, U. Welsch, *Systematische Zoologie*, 3. Aufl., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, **1986**, 35-36.
- [106] A. E. Wright, N. S. Burres, G. K. Schulte, *Tetrahedron Letters* **1989**, 30 (27), 3491-3494.
- [107] S. F. Ahmed, J.-H. Su, Y.-H. Kuo, J.-H. Sheu, *J. Nat. Prod.* **2004**, 67, 2079-1082.
- [108] C.-X. Zhang, S.-J. Yan, G.-W. Zhang, W.-G. Lu, J.-Y. Su, L.-M. Zeng, L.-Q. Gu, X.-P. Yang, Y.-J. Lian, *J. Nat. Prod.* **2005**, 68, 1087-1089.
- [109] C.-Y. Duh, S.-K. Wang, S.-G. Chung, G.-C. Chou, C.-F. Dai, *J. Nat. Prod.* **2000**, 63, 1634-1637.
- [110] C.-Y. Duh, R.-S. Hou, *J. Nat. Prod.* **1996**, 59, 595-598.
- [111] H. Beyer, W. Walter, *Lehrbuch der organischen Chemie*, 20. Aufl., S. Hirzel Verlag Stuttgart, **1984**, 32-50.
- [112] H. Duddeck, W. Dietrich, *Strukturaufklärung mit moderner NMR-Spektroskopie*, Steinkoff Verlag, Darmstadt, **1998**, 17-22.
- [113] E. Breitmaier, *Vom NMR-Spektrum zur Strukturformel organischer Verbindungen*, B. G. Teubner Stuttgart, **1992**, 30-32.

- [114] H. Günther, *NMR-Spektroskopie*, 3. Aufl., Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1992**, 374-378.
- [115] H. Friebolin, *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*, 2. Aufl., VCH Weinheim, **1992**, 83-106.
- [116] D. H. Williams, I. Fleming, *Strukturaufklärung in der organischen Chemie*, 5. Aufl., Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1985**, 161.
- [117] E. Schröder, *Massenspektrometrie: Begriffe und Definitionen*, Springer-Verlag Berlin, **1991**, 23-26.
- [118] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 4. Aufl., Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1991**, 238-246.
- [119] D. H. Williams, I. Fleming, *Strukturaufklärung in der organischen Chemie*, 5. Aufl., Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1985**, 210-211.
- [120] G. Reznicek, O. Susman, K. Böhm, *Sci. Pharm.* **1993**, 61, 35-45.
- [121] G. J. Gerwig, J. P. Kamerling, J. F. G. Vliegthart, *Carbohydr. Res.* **1978**, 62, 349-357.
- [122] <http://de.wikipedia.org/wiki/Kreuzdorngewächse>
- [123] R. D. Meikle, *Flora of Cyprus*, Vol. 1, Bentham-Moxon Trust Royal Botanic Gardens Kew, **1977**, 352-360.
- [124] S. Collenette, *An illustrated guide to the flowers of Saudi Arabia*, Scorpion Publishing LTD. London, **1985**, 421-423.
- [125] E. Lev, Z. Amar, *Journal of Ethnopharmacology* **2000**, 72, 191-205.
- [126] A. A. Shahat, L. Pieters, S. Apers, N. M. Nazeif, N. S. Abdel-Azim, D. V. Berghe, A. J. Vlietinck, *Phytotherapy Research* **2001**, 15, 593-597.
- [127] B. Adzu, S. Amos, M. B. Amizan, K. Gamaniel, *Acta Tropica* **2003**, 87, 245-250.
- [128] N. A. Awadh Ali, W.-D. Jülich, C. Kusnick, U. Lindequist, *Journal of Ethnopharmacology* **2001**, 74, 173-179.
- [129] G. H. Mahran, K.-W. Glombitza, Y. W. Mirhom, R. Hartmann, C. G. Michel, *Planta Medica* **1996**, 62, 163-165.
- [130] K.-W. Glombitza, G. H. Mahran, Y. W. Mirhom, K. G. Michel, T. K. Motawi, *Planta Medica* 1994, 60, 244-247.
- [131] A. O. Abdel-Zaher, S. Y. Salim, M. H. Assaf, R. H. Abdel-Hady, *Journal of Ethnopharmacology* **2005**, 101, 129-138.
- [132] M. A. M. Nawwar, M. S. Ishak, H. N. Michael, J. Buddrus, *Phytochemistry* **1984**, 23 (9), 2110-2111.

- [133] W. Schühly, J. Heilmann, I. Çalis, O. Sticher, *Helv. Chim. Acta* **2000**, 83, 1509-1516.
- [134] E. Pretsch, P. Bühlmann, C. Affolter, M. Badertscher, *Spektroskopische Daten zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen*, 4. Auflage, Springer Verlag Berlin Heidelberg New York, **2001**.
- [135] N. Okamura, T. Nohara, A. Yagi, I. Nishioka, *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, 29 (3), 676-683.
- [136] S. C. Sharma, R. Kumar, *Pharmazie* **1982**, 37 (11), 809-810.
- [137] G. Capozzi, C. Ciampi, G. Delogu, S. Menichetti, C. Nativi, *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 8787-8792.
- [138] C. L. Stevens, R. P. Glinski, K. G. Taylor, *J. Org. Chem.* **1968**, 33 (4), 1586-1592.
- [139] P. M. Collins, W. G. Overend, *J. Chem. Soc.* **1965**, 1912-1918.
- [140] T. Nakata, G. Schmid, B. Vranesic, M. Okigawa, T. Smith-Palmer, Y. Kishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 2933-2935.
- [141] P. M. Collins, W. G. Overend, *Chem. & Ind.* **1963**, 175-176.
- [142] Y. Kimura, Y. Kobayashi, T. Takeda, Y. Ogihara, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1981**, 1923-1927.
- [143] P. K. Agrawal, *Carbon-13 NMR of Flavonoids*, ELSEVIER New York, **1989**, 341-342.
- [144] T. Brasseur, L. Angenot, *Phytochemistry* **1986**, 25 (2), 563-564.
- [145] C. de O. Brochado, A. P. de Almeida, B. P. Barreto, L. P. Costa, L. S. Ribeiro, R. L. da C. Pereira, V. L. Gonçalves Koatz, S. S. Costa, *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, 14 (3), 449-451.
- [146] <http://de.wikipedia.org/wiki/Seidenpflanzengewächse>
- [147] S. Collenette, *An illustrated guide to the flowers of Saudi Arabia*, Scorpion Publishing LTD. London, **1985**, 74.
- [148] http://www.uni-bayreuth.de/departments/planta2/research/databases/delta_as/www/soleno.htm
- [149] www.aun.edu.eg/community/cultivation_of_indigenous_medic1.htm
- [150] A. Plaza, A. Perrone, C. Balestrieri, M. L. Balestrieri, G. Bifulco, V. Carbone, A. Hamed, C. Pizza, S. Piacente, *Tetrahedron* **2005**, 61, 7470-7480.
- [151] A. Plaza, A. Perrone, M. L. Balestrieri, F. Felice, C. Balestrieri, A. I. Hamed, C. Pizza, S. Piacente, *Steroids* **2005**, 70, 594-603.

- [152] A. I. Hamed, *Fitoterapia* **2001**, 72, 747-755.
- [153] http://www.sms.si.edu/irlspec/Entero_flexuo.htm
- [154] R. Borchering, *Pflanze des Monats Mai 1998*, Schutzstation Wattenmeer e. v.. Als pdf-file aus dem Internet (<http://www.schutzstation-wattenmeer.de/wissen/darmtang.html>).
- [155] L. R. Andrade, M. Farina, G. M. Amado Filho, *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2004**, 58, 117-125.
- [156] <http://www.tu-darmstadt.de/schulen/lgg/riff/content/algen.html>
- [157] http://www.hawaii.edu/reefalgae/invasive_algae/chloro/enteromorpha_flexuosa.htm
- [158] M. D. Greca, P. Monaco, L. Previtera, *J. Nat. Prod.* **1990**, 53 (6), 1430-1435.
- [159] H. Erhardt, H. A. Baensch, *Meerwasser Atlas Band 4: Wirbellose Tiere*, 1. Aufl., Mergus®-Verlag GmbH Melle, **1998**, 342-349.
- [160] <http://www.knop.de/d/magazin/krustenanemonen.htm>
- [161] S. A. Fosså, A. J. Nilsen, *Korallenriff-Aquarium Band 4: Nesseltiere im Korallenriff und für das Korallenriff-Aquarium*, Brigit Schmettkamp Verlag Bornheim, **1995**, 255-268.
- [162] R. E. Moore, P. J. Scheuer, *Science* **1971**, 172, 495-498.
- [163] H. Russmann, *Toxine: Biogene Gifte und potenzielle Kampfstoffe*, Bundesgesundheitsbl. Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz **2003**, 46, 989-996.
- [164] E. Habermann, *Toxicon* **1989**, 27 (11), 1171-1187.
- [165] G. S. Bignami, *Toxicon* **1993**, 31 (6), 817-820.
- [166] W. Steglich, B. Fugmann, S. Lang-Fugmann, *Römpf-Lexikon Naturstoffe*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1997**, 463.
- [167] K. C. Gupta, P. J. Scheuer, *Steroids* **1969**, 343-356.
- [168] A. Kelecom, A. M. Solé-Cava, *Comp. Biochem. Physiol.* **1982**, 72B (4), 677-682.
- [169] H. Schabdach, S. Johne, U. Steiner, K. Seifert, *Zeitung für Naturforschung* **1995**, 50c, 257-262.
- [170] S. A. Fosså, A. J. Nilsen, *Korallenriff-Aquarium Band 4: Nesseltiere im Korallenriff und für das Korallenriff-Aquarium*, Brigit Schmettkamp Verlag Bornheim, **1995**, 123-137.

- [171] H. Schuhmacher, Korallenriffe: *Ihre Verbreitung, Tierwelt und Ökologie*, 2. Aufl., BLV Verlagsgesellschaft München, **1982**, 61-65.
- [172] S. A. Fosså, A. J. Nilsen, *Korallenriff-Aquarium Band 4: Nesseltiere im Korallenriff und für das Korallenriff-Aquarium*, Brigit Schmettkamp Verlag Bornheim, **1995**, 137-149.
- [173] K. Yamada, K. Ryu, T. Miyamoto, R. Higuchi, *J. Nat. Prod.* **1997**, 60, 798-801.
- [174] Y. Uchio, J. Toyota, H. Nozaki, M. Nakayama, Y. Nishizono, T. Hase, *Tetrahedron Letters* **1981**, 22 (41), 4089-4092.
- [175] B. Tursch, J. C. Braekman, D. Daloze, *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1975**, 84, 767-774.
- [176] R. Schwabe, I. Farkas, H. Pfander, *Helv. Chim. Acta* **1988**, 71, 292-297.
- [177] F. J. Schmitz, D. J. Vanderah, L. S. Ciereszko, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1974**, 139, 407-408.
- [178] J.-M. Lo, W.-L. Wang, Y.-M. Chiang, C.-M. Chen, *J. Chin. Chem. Soc.* **2001**, 48 (4), 821-826.
- [179] M. Papina, T. Meziane, R. van Woesik, *Comp. Biochem. Physiol. Part B* **2003**, 135, 533-537.
- [180] L. Ruisheng, W. Sanyong, T. Guili, L. Kanghou, *Steroids* **1994**, 59 (8), 503-505.
- [181] M. B. Ksebati, L. S. Ciereszko, F. J. Schmitz, *J. Nat. Prod.* **1984**, 47 (6), 1009-1012.
- [182] J. C. Coll, B. F. Bowden, A. Heaton, P. J. Scheuer, M. K. W. Li, J. Clardy, G. K. Schulte, J. Finer-Moore, *J. Chem. Ecol.* **1989**, 15 (4), 1177-1191.
- [183] R. A. Epifanio, D. L. Martins, R. Villaça, R. Gabriel, *J. of Chem. Ecol.* **1999**, 25 (10), 2255-2265.
- [184] K. Nishimura, N. Shinoda, Y. Hirose, *Tetrahedron Letters* **1969**, 36, 3097-3100.
- [185] J. E. McMurry, G. K. Bosch, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 4885-4893.
- [186] C. M. Beechan, C. Djerassi, H. Eggert, *Tetrahedron* **1978**, 34, 2503-2508.
- [187] Y.-C. Wu, P.-W. Hsieh, C.-Y. Duh, S.-K. Wang, K. Soong, L.-S. Fang, *J. of the Chinese Chemical Society* **1992**, 39, 355-357.
- [188] G. J. Greenland, B. F. Bowden, *Aust. J. Chem.* **1994**, 47, 2013-2021.
- [189] H. Dong, Y.-L. Gou, R. M. Kini, H.-Xi. Xu, S.-X. Chen, S. L. M. Teo, P. P.-H. But, *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, 48 (7), 1087-1089.

- [190] J. Bernstein, U. Shmeuli, E. Zadock, Y. Kashman, I. Néeman, *Tetrahedron* **1974**, 30, 2817-2824.
- [191] D. Czarkie, S. Carmely, A. Groweiss, Y. Kashman, *Tetrahedron* **1985**, 41 (6), 1049-1056.
- [192] F. A. Badria, A. N. Guirguis, S. Perovic, R. Steffen, W. E. G. Müller, H. C. Schröder, *Toxicology* **1998**, 131, 133-143.
- [193] M. Kobayashi, T. Nakagawa, H. Mitsuhashi, *Chem. Pharm. Bull.* **1979**, 27(10), 2382-2387.
- [194] H. Fujiki, M. Suganuma, H. Suguri, S. Yoshizawa, K. Takagi, M. Kobayashi, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **1989**, 115, 25-28.
- [195] M. Feller, A. Rudi, N. Berer, I. Goldberg, Z. Stein, Y. Benayahu, M. Schleyer, Y. Kashman, *J. Nat. Prod.* **2004**, 67, 1303-1308.
- [196] M. Kobayashi and T. Hirase, *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, 38 (9), 2442-2445.
- [197] S. A. Fosså, A. J. Nilsen, *Korallenriff-Aquarium Band 4: Nesseltiere im Korallenriff und für das Korallenriff-Aquarium*, Brigit Schmettkamp Verlag Bornheim, **1995**, 157-163.
- [198] B. F. Bowden, J. C. Coll, A. D. Wright, *Aust. J. Chem.* **1989**, 42, 757-763.
- [199] K. A. El Sayed, M. T. Hamann, C. A. Waddling, C. Jensen, S. K. Lee, C. A. Dunstan, J. M. Pezzuto, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 7749-7455.
- [200] I. Néeman, L. Fishelson, Y. Kashman, *Toxicon* **1974**, 12 (6), 593-594.
- [201] I. Katsuyama, H. Fahmy, J. K. Zjawiony, S. I. Khalifa, R. W. Kilada, T. Konoshima, M. Takasaki, H. Tokuda, *J. Nat. Prod.* **2002**, 65, 1809-1814.
- [202] K. A. El Sayed, K. Y. Orabi, D. C. Dunbar, M. T. Hamann, M. A. Avery, Y. A. Sabnis, J. S. Mossa, F. S. El-Feraly, *Tetrahedron* **2002**, 58, 3699-3708.
- [203] A. Erman, I. Néeman, *Toxicon* **1977**, 15 (3), 207-215.
- [204] B. F. Bowden, J. C. Coll, A. Heaton, G. M. König, M. A. Bruck, R. E. Cramer, D. M. Klein, P. J. Scheuer, *J. Nat. Prod.* **1987**, 50 (4), 650-659.
- [205] J. Kobayashi, Y. Ohizumi, H. Nakamura, T. Yamakado, T. Matsuzaki, Y. Hirata, *Experientia* **1983**, 39 (1), 67-69.
- [206] R. Jia, Y.-W. Guo, E. Mollo, and G. Cimino, *Helv. Chim. Acta* **2005**, 88, 1028-1033.
- [207] R. Kazlauskas, J. A. Baird-Lambert, P. T. Murphy, R. J. Wells, *Aust. J. Chem.* **1982**, 35, 61-68.
- [208] F. A. Badria, A. N. Guirguis, W. A. El-Naggar, *International Journal of Pharmacognosy* **1997**, 35 (4), 284-287.

- [209] U. Anthoni, K. Block, C. Christophersen, J. Duus, E. B. Kjær, P. H. Nieslen, *Tetrahedron Letters* **1991**, 32 (24), 2825-2826.
- [210] K. Yamada, K. Ryu, T. Miyamoto, and R. Higuchi, *J. Nat. Prod.* **1997**, 60, 798-801.
- [211] B. F. Bowden, J. C. Coll, S. J. Mitchell, G. J. Stokie, *Aust. J. Chem.* **1979**, 32, 653-659.
- [212] R. Grandi, A. Marchesini, U. M. Pagnoni, R. Trave, *Phytochemistry* **1972**, 11, 3363-3365.
- [213] R. W. Dunlop, R. J. Wells, *Aust. J. Chem.* **1979**, 32, 1345-1351.
- [214] B. Maurer, A. Grieder, *Helv. Chim. Acta* **1977**, 60 (7), 2177-2190.
- [215] M. G. Missakian, B. J. Burreson, P. J. Scheuer, *Tetrahedron* **1975**, 31, 2513-2515.
- [216] D. J. Gerhart, D. Rittschof, S. W. Mayo, *J. of Chem. Ecol.* **1988**, 14 (10), 1905-1917.
- [217] D. J. Gerhart, J. C. Coll, *J. of Chem. Ecol.* **1993**, 19 (11), 2697-2704.
- [218] M. Gutiérrez, T. L. Capson, H. M. Guzmán, J. González, E. Ortega-Barría, E. Quiñoá, R. Riguera, *J. Nat. Prod.* **2005**, 68, 614-616.
- [219] S. Mizobuchi, K. Kon-ya, K. Adachi, M. Sakai, W. Miki, *Fisheries Science* **1994**, 60(3), 345-346.
- [220] N. Kube, U. Waller, *Blaue Biotechnologie: Stand und Perspektiven der marinen Naturstoffe*, **2003**, Technologiestiftung Schleswig-Holstein, 56-57. Als pdf-file aus dem Internet (<http://www.i-sh.org/>).
- [221] C. P. Wylie, V. J. Paul, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **1989**, 129, 141-160.
- [222] B. F. Bowden, J. C. Coll, E. D. de Silva, M. S. L. de Costa, P. J. Djura, M. Mahendran, D. M. Tapiolas, *Aust. J. Chem.* **1983**, 36, 371-376.
- [223] <http://www.knop.de/d/magazin/dendronephthya.htm>
- [224] M. Kaisin, J. C. Braekman, D. Daloze, B. Tursch, *Tetrahedron* **1985**, 41 (6), 1067-1072.
- [225] Y. M. Sheikh, C. Djerassi, J. C. Braekman, D. Daloze, M. Kaisin, B. Tursch, R. Karlsson, *Tetrahedron* **1977**, 33, 2115-2117.
- [226] Y. M. Sheikh, G. Singy, M. Kaisin, H. Eggert, C. Djerassi, B. Tursch, D. Daloze, J. C. Braekman, *Tetrahedron* **1976**, 32, 1171-1178.
- [227] M. Schmidtke, A. Sauerbrei, P. Wutzler, *Chemotherapie Journal* **2005**, 14 (6), 207-211.
- [228] M. Shnyreva, T. Munder, *J. Virol.* **1996**, 70, 7478-7884.

- [229] T. Munder, M. Nincovic, B. Rudakoff, *Biotech. Annu. Rev.* **1997**, 3, 31-57.
- [230] K. Hostettmann, A. Marston, *Chemistry and Pharmacology Natural Products – Saponins*, Cambridge University Press Cambridge, **1995**, 325-326.
- [231] K.-G. Shyu, S.-C. Tsai, B.-W. Wang, Y.-C. Liu, C.-C. Lee, *Life Sciences* **2004**, 76, 813-826.
- [232] <http://www.naturfoto-online.de/galerie-%2Ckorallen-7.htm> (Foto Nr. 5313)
- [233] R. Wehner, W. Gehring, *Zoologie*, 22. Aufl., Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1990**, 636.
- [234] H. Schuhmacher, *Korallenriffe: Ihre Verbreitung, Tierwelt und Ökologie*, 2. Aufl., BLV Verlagsgesellschaft München, **1982**, 125.
- [235] H. Erhardt, H. A. Baensch, *Meerwasser Atlas Band 4: Wirbellose Tiere*, 1. Aufl., Mergus®-Verlag GmbH Melle, **1998**, 211.

Publikationen

F. S. Tayman, V. Y. Atsu Barku, Y. Opoku-Boahen, K. Seifert, and D. Grote
Isolation of *ent*-labdane (+)-12,15-epoxylabda-8(17),12,14-trien-16-yl acetate from the seeds of *Turraeanthus africanus* and its cytostatic/cytotoxic effect on the growth of cancer cells *in vitro*

Chemistry of Natural Compounds, **2006**, 42, 46-48.

D. Grote, H. S. H. Soliman, K. H. Shaker, M. Hamza and K. Seifert
Cembranoid diterpenes and a briarane diterpene from corals

Natural Product Research, **2006**, 20, 285-291.

Dank

Mein aufrichtiger und besonderer Dank gilt,

Herrn Prof. Dr. Karlheinz Seifert,

für die herzliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis, für die sehr interessante Aufgabenstellung und die stetige Diskussionsbereitschaft aller auftretenden Probleme sowie die freundliche Betreuung während der Arbeit.

Herrn Dr. Kamel H. Shaker und *Herrn Dr. Hesham Soliman* möchte ich für die Zusammenarbeit danken. *Herrn Dr. Kamel H. Shaker* danke ich außerdem besonders für seine Hilfsbereitschaft und sein freundliches Entgegenkommen.

Mein herzlicher Dank gilt *Frau Dr. Corinna Lange* am Hans-Knöll-Institut in Jena für die Durchführung der pharmakologischen Testungen.

Herrn Dr. Ulrich Meve danke ich für die Suche nach Abbildungen von *Solenostemma argel*.

Dank an *Herrn Michael Gläßner* für die Aufnahme der EI-MS-, FAB-MS- und GC-MS-Spektren sowie *Frau Petra Gros* und *Herrn Dr. Thomas Gedig* für die GC-Messungen.

Herrn Dr. Xaver Schratt und *Herrn Christian Piontek* danke ich für die Aufnahmen der ESI- und HR-ESI-Massenspektren.

Frau Kerstin Hannemann danke ich für die Aufnahmen von NMR-Spektren am 300MHz-Gerät.

Mein Dank gilt auch der gesamten Arbeitsgruppe für die Tipps und hilfreichen Diskussionen sowie für die äußerst angenehme Atmosphäre im Labor.

Weiterhin möchte ich noch den von mir betreuten Praktikanten danken.

Dank gebührt auch meinem Computerexperten *Herrn Rüdiger Ulbrich* für die Unterstützung bei EDV-Problemen und die Korrektur des Manuskriptes.

Jetzt möchte ich noch meinen Eltern danken, die für mich immer da waren, mich mit aller Kraft unterstützten und mir viele Möglichkeiten offen legten.

Der letzte Dank gilt meinem Freund, der mich auf allen meinen Wegen hilfreich unterstützt.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich diese Arbeit selbst verfasst und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Ferner erkläre ich, dass ich weder an der Universität Bayreuth noch anderweitig versucht habe, eine Dissertation einzureichen und mich der Doktorprüfung zu unterziehen.

Bayreuth, den 10. April 2007

(Daniela Grote)